UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

1949-1950 – N° 20

# CONTRIBUTION
# A
# L'ETUDE HISTOCHIMIQUE ET HISTOPHYSIOLOGIQUE DES PHOSPHATASES

THÈSE POUR LE DOCTORAT EN MÉDECINE

*Présentée et soutenue publiquement le Vendredi 16 Décembre 1949*

PAR

**Jean-Marc AUGEYROLLE**

DIPLÔMÉ DE MÉDECINE DU TRAVAIL
DIPLÔMÉ DE BIOLOGIE ET MÉDECINE AÉRONAUTIQUE
DIPLÔMÉ DE BIOLOGIE APPLIQUÉE A L'ÉDUCATION PHYSIQUE ET AUX SPORTS

Né à Bergerac (Dordogne), le 3 Mars 1924

Examinateurs de la Thèse :

MM. FABRE, professeur ..... *Président*
CREYX, professeur .....
TRAISSAC, agrégé ..... *Juges*
MAYER, agrégé .....

BORDEAUX
IMPRIMERIE E. DROUILLARD
3, PLACE DE LA VICTOIRE, 3

1949

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41536518_0100

UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

1949-1950 — N° 20

# CONTRIBUTION
# A
# L'ETUDE HISTOCHIMIQUE ET HISTOPHYSIOLOGIQUE DES PHOSPHATASES

## THÈSE POUR LE DOCTORAT EN MÉDECINE

*Présentée et soutenue publiquement le Vendredi 16 Décembre 1949*

PAR

**Jean-Marc AUGEYROLLE**

DIPLÔMÉ DE MÉDECINE DU TRAVAIL

DIPLÔMÉ DE BIOLOGIE ET MÉDECINE AÉRONAUTIQUE

DIPLÔMÉ DE BIOLOGIE APPLIQUÉE A L'ÉDUCATION PHYSIQUE ET AUX SPORTS

Né à Bergerac (Dordogne), le 3 Mars 1924

Examinateurs de la Thèse :

MM. FABRE, professeur ..... *Président*

CREYX, professeur .....

TRAISSAC, agrégé ..... *Juges*

MAYER, agrégé .....

BORDEAUX

IMPRIMERIE E. DROUILLARD

3, PLACE DE LA VICTOIRE, 3

1949

# FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE BORDEAUX

**DOYEN HONORAIRE** : M. DUPÉRIÉ.
**DOYEN** : M. PORTMANN. — **ASSESSEUR** : M. CHELLE.

## PROFESSEURS HONORAIRES :

MM. DENIGÈS, A. MANDOUL, PETGES, GUYOT, ANDÉRODIAS, ROCHER, LANDE, DUVERGEY, CARLES, LEURET, PÉRY, LABAT, CHARRIER.

## PROFESSEURS :

| | MM. |
|---|---|
| Clinique médicale | DUPÉRIÉ, CREYX |
| Clinique chirurgicale | PAPIN, MASSÉ |
| Clinique d'accouchements | RIVIERE |
| Anatomie pathologique et microscopie clinique | DE GRAILLY |
| Anatomie | VILLEMIN |
| Anatomie générale et histologie | N... |
| Hygiène et Clinique de la tuberculose | PIÉCHAUD |
| Médecine légale et médecine du travail | DERVILLÉE |
| Electroradiologie et clinique d'électricité médicale | REBOUL |
| Chimie | CHELLE |
| Matière médicale | GOLSE |
| Pharmacie | VITTE |
| Physiologie | FABRE |
| Clinique médicale des maladies des enfants | FONTAN |
| Clinique gynécologique | MAGENDIE |
| Zoologie et parasitologie | SIGALAS |

| | MM. |
|---|---|
| Médecine expérimentale | AUBERTIN |
| Clinique ophtalmologique | BEAUVIEUX |
| Clinique chirurgicale infantile et orthopédie | LOUBAT |
| Clinique des maladies infectieuses | DAMADE |
| Chimie biologique et médicale | MACHEBŒUF |
| Physique médicale et pharmaceutique | PIFFAULT |
| Médecine coloniale et Clinique des maladies exotiques | BONNIN |
| Clinique des maladies cutanées et syphilitiques | JOULIA |
| Clinique des maladies des voies urinaires | DARGET |
| Clinique des maladies nerveuses et mentales | DELMAS-MARSALET |
| Clinique d'oto-rhino-laryngologie | PORTMANN |
| Toxicologie et hygiène appliquée | CASTAGNOU |
| Clinique odonto-stomatologique | DUBECQ |
| Botanique et cryptogamie | GIRARD |
| Thérapeutique | BROUSTET |

PROFESSEURS SANS CHAIRE : MM. PERRENS (Maladies mentales), DUFOUR (Anatomie), MESNARD (Pharmacie).

## AGRÉGÉS EN EXERCICE :

| | MM. |
|---|---|
| Physiologie | N... |
| Médecine générale | N..., SARIC, DUBARRY, J. TRAISSAC, BERGOUIGNAN |
| Chirurgie générale | N..., N..., POUYANNE, LAUMONIER, CHAVANNAZ |

| | MM. |
|---|---|
| Obstétrique | MAHON |
| Ophtalmologie | BESSIÈRE |
| Oto-rhino-laryngologie | DESPONS |
| Dermatologie et syphiligraphie | LE COULANT |
| Chimie médicale | TAYEAU |
| Chimie générale pharmaceut. et toxicologie | N... |
| Histoire naturelle médicale et parasitologie | N... |
| Histologie | MAYER |
| Pédiatrie et puériculture | VERGER |
| Médecine légale et médecine du travail | L'ÉPÉE |
| Electro-radiologie | LACHAPÈLE |
| Odonto-stomatologie | MARONNEAUD |

## MAITRE DE CONFÉRENCES :

Physique pharmaceutique..... M. BLANQUET.

## COURS COMPLÉMENTAIRES :

| | MM. |
|---|---|
| Médecine opératoire | N... |
| Accouchements | N... |
| Puériculture | PÉRY |
| Zoologie et parasitologie | N... |
| Législation pharmaceutique | POPLAWSKI |
| Ophtalmologie | N... |
| Anatomie | RIGAUD |
| Chimie minérale | R. GOLSE |

| | MM. |
|---|---|
| Pharmacie galénique | MESNARD |
| Organographie et physiologie végétale | TEMPÈRE |
| Bactériologie | MOUREAU |
| Physiologie | Mme ROUGIER |
| Chimie biologique | NEUZIL |
| Parasitologie et biologie appliquées | PAUTRIZEL |
| Pathologie chirurgicale | LAUMONIER |
| Biologie pharmaceutique | MASQUELIER |

*Le Secrétaire de la Faculté :* ROUGERIE.

Par délibération du 5 août 1879, la Faculté a arrêté que les opinions émises dans les Thèses qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle entend ne leur donner ni approbation ni improbation.

BIBLIOTHEEK LEIDEN

A MON PÈRE, A MA MÈRE

A MES GRAND'MÈRES

Ce faible témoignage de ma profonde gratitude et du plus grand amour filial.

---

A MA FEMME

Très affectueusement.

---

A MES BEAUX-PARENTS

---

A MON BEAU-FRÈRE

---

A TOUTE MA FAMILLE

---

A MES AMIS DU LABORATOIRE D'HISTOLOGIE
ET DE CHIMIE BIOLOGIQUE

---

A TOUS MES AMIS

A NOS MAITRES DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE

ET DES HOPITAUX

---

A MONSIEUR LE DOCTEUR BAUDRIMONT

DOCTEUR EN MÉDECINE

DOCTEUR ÈS SCIENCES

CHEF DE TRAVAUX A LA FACULTÉ

CHEVALIER DE LA LÉGION D'HONNEUR

CROIX DE GUERRE 1914-1918

OFFICIER DE L'INSTRUCTION PUBLIQUE

Bien respectueusement.

---

A MONSIEUR LE PROFESSEUR AGRÉGÉ F. TAYEAU

CHARGÉ DE LA CHAIRE DE CHIMIE BIOLOGIQUE ET MÉDICALE

DOCTEUR ÈS SCIENCES

Qui nous a réservé le meilleur accueil dans son laboratoire et nous a prodigué les plus utiles conseils.

Nous l'en remercions très profondément.

A NOTRE MAITRE

## MONSIEUR LE PROFESSEUR G. DUBREUIL

PROFESSEUR D'ANATOMIE GÉNÉRALE ET HISTOLOGIE
MEMBRE CORRESPONDANT DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE
CHEVALIER DE LA LÉGION D'HONNEUR
OFFICIER DE L'INSTRUCTION PUBLIQUE

Qui a bien voulu nous permettre de travailler dans son laboratoire et nous donner les conseils les plus éclairés.
Qu'il veuille bien trouver dans ce travail l'hommage de notre respectueuse reconnaissance.

---

A NOTRE JURY DE THÈSE :

## MONSIEUR LE PROFESSEUR AGRÉGÉ TRAISSAC

MÉDAILLE D'OR DE L'INTERNAT
MÉDECIN ADJOINT DES HÔPITAUX

Hommage respectueux.

## MONSIEUR LE PROFESSEUR AGRÉGÉ G. MAYER

AGRÉGÉ D'HISTOLOGIE ET D'EMBRYOLOGIE

Qui nous a inspiré ce travail et que nous tenons à remercier tout particulièrement pour sa bienveillance et l'aide efficace qu'il a bien voulu nous apporter.
Qu'il veuille bien trouver ici l'expression de notre très vive reconnaissance.

## MONSIEUR LE PROFESSEUR CREYX

PROFESSEUR DE CLINIQUE MÉDICALE
MÉDECIN DES HÔPITAUX
CHEVALIER DE LA LÉGION D'HONNEUR
CROIX DE GUERRE
OFFICIER DE L'INSTRUCTION PUBLIQUE

Hommage respectueux.

A NOTRE MAITRE ET PRÉSIDENT DE THÈSE

## MONSIEUR LE PROFESSEUR FABRE

PROFESSEUR DE PHYSIOLOGIE

DIRECTEUR DE L'INSTITUT D'ÉDUCATION PHYSIQUE

OFFICIER DE LA LÉGION D'HONNEUR

MÉDAILLE MILITAIRE

CROIX DE GUERRE

OFFICIER DE L'INSTRUCTION PUBLIQUE

Qui nous a fait le grand honneur de bien vouloir présider notre thèse.

Nous avons, au cours de nos années d'études, apprécié la clarté et la valeur de son enseignement.

Nous tenons ici à l'en remercier très profondément.

# CONTRIBUTION A L'ÉTUDE HISTOCHIMIQUE ET HISTOPHYSIOLOGIQUE DES PHOSPHATASES

## INTRODUCTION

Après avoir été surtout une étude morphologique des cellules, tissus et organes, l'histologie emprunte aujourd'hui, en les adaptant, les techniques de la biochimie, les méthodes et l'esprit de la physiologie moderne.

Ainsi se sont constituées l'histophysiologie et l'histochimie qui révèlent les activités cellulaires sous l'aspect *d'images fonctionnelles* mises en évidence par des techniques spéciales.

Ces techniques surprennent une fonction en train de s'accomplir au niveau d'une cellule ou d'un tissu. Les images de ce phénomène sont essentiellement contingentes et labiles. L'histologie pure nous montrait, au contraire, dans les structures relativement stables des cellules et tissus, un ensemble de fonctions bien équilibrées.

L'histochimie se place sur un plan dynamique et constitue un test de fonction très utile en s'efforçant de préciser le rôle de tel ou tel élément histologique.

Ce travail sera consacré à l'étude histochimique et histophysiologique d'un groupe d'enzymes : *les phosphatases,* en faisant état d'un grand nombre de travaux de détail et sous forme d'une revue générale.

Les enzymes entrent dans le cadre des *substances fonctionnelles,* comme les hormones, les vitamines, les organisines, les oligoéléments...

Les phosphatases ne sont pas la propriété exclusive de certaines cellules ou certains tissus; elles entrent probablement dans la constitution de tous les éléments vivants. Mais leur mise en évidence est fonction des conditions dans lesquelles cet enzyme exerce son activité.

La facilité des méthodes et de l'interprétation microscopique des coupes histologiques a certainement contribué à multiplier les travaux parcellaires sur les phosphatases. On a déjà tenté, à plusieurs reprises, de dégager des idées d'ensemble d'après ces publications, il en sera tenu compte au cours de cet exposé de la question.

# CHAPITRE PREMIER

## Aperçu sur la biochimie des phosphatases et son intérêt clinique

On appelle phosphatase tout enzyme libérant de l'acide orthophosphorique à partir de ses monoesters, diesters, amides, de l'acide pyrophosphorique (provenant de la condensation de deux molécules d'acide orthophosphorique avec élimination d'eau) et de l'acide métaphosphorique. Ce sont des *estérases* catalysant l'hydrolyse et la synthèse des esters de l'acide phosphorique. En réalité, toutes les actions phosphatasiques ne sont pas catalysantes d'hydrolyse; la transformation des métaphosphates en orthophosphates n'est, par exemple, qu'une hydratation.

### Historique de la question

C'est avec Robison [119], en 1923, que commence l'étude des phosphatases. Cet auteur a, en effet, montré l'existence, au cours des processus d'ossification, d'une diastase dont l'activité se manifeste par l'hydrolyse des sels de l'acide hexosemonophosphorique.

Robison et ses collaborateurs (Soames, Mac Leod, Rosenheim, Fell, Martland...) réalisèrent alors la première démonstration topographique de la phosphatase alcaline, en montrant la localisation de ce ferment dans la métaphyse et la zone juxta-épiphysaire du cartilage de conjugaison des os longs, chez de jeunes Mammifères.

Cette localisation devait faire attribuer à la phosphatase alcaline un rôle important dans la genèse des sels de l'os au cours de l'ossification.

Ces auteurs faisaient incuber des portions d'os de jeunes animaux dans une solution contenant un ester phosphorique (hexosephosphate ou glycérophosphate), un sel de calcium, une substance tamponnant le milieu à *p*H 7,2, maintenue à 37° C.

La phosphatase libère alors un phosphate inorganique qui précipite sous forme de phosphate de calcium rendu visible sur les fragments d'os par la formation secondaire de phosphate d'argent (méthode de Kossa). Le dépôt argentique est localisé à la zone d'ossification.

Avant 1923, on avait déjà signalé l'existence d'un ferment répondant à la définition donnée plus haut.

En effet, en 1907, Suzuki, Yoshimura et Takaishi ont observé que des céréales libèrent de l'acide phosphorique à partir de la phytine (sel calcomagnésien de l'ester hexaphosphorique de l'inositol) ; en 1911, Neuberg et Karczag constatent l'hydrolyse enzymatique des glycérophosphates par les levures, tandis que Levène et Medegriceanu l'observent dans les nucléotides des tissus animaux, et que Grosser, Hussler, Plimmer et Von Euler signalent celle des hexosediphosphates dans ces mêmes tissus.

En 1935, Oppenheimer cite, dans une revue d'ensemble, 489 travaux sur les phosphatases.

En 1944, Roche et Courtois [122], dans une très intéressante monographie, relèvent 300 publications depuis 1935.

Le dernier travail d'ensemble, à notre connaissance, est celui que Sols [133] a publié en 1947 dans la *Revue espagnole de physiologie,* et qui est une révision de la littérature concernant les phosphatases depuis 1944.

Le nombre des travaux sur la biochimie de cet enzyme ne cesse d'augmenter; c'est dire l'intérêt que l'on porte à cette étude qui envisage aussi bien les tissus animaux dans les espèces les plus variées que les tissus végétaux.

Les chercheurs s'appliquent maintenant à déterminer les divers modes d'activité phosphatasique en variant les conditions expérimentales.

### Caractères généraux et essai de classification des phosphatases

Lorsqu'on parle de diastases, on doit avoir présentes à l'esprit plusieurs notions. L'interférence de ces notions permet d'établir une classification rationnelle de ces substances.

La première notion est celle de la spécificité du substrat.

La deuxième celle de *p*H optimum, d'où découle celle *d'isodynamie* (les diastases isodynames étant celles qui agissent sur les mêmes substrats, mais dans des conditions de *p*H différentes).

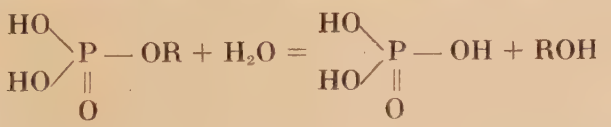
La troisième est celle *d'effecteurs,* c'est-à-dire de corps agissant en activateurs ou en inhibiteurs des enzymes. Ces effecteurs très variés appartiennent soit à la chimie minérale, soit à la chimie organique.

La quatrième notion est celle du mode d'action des diastases : catalyse de processus hydrolytique, ou d'hydratation, ou d'oxydoréduction, ou de peroxydation, etc.

La classification des phosphatases dérive de toutes ces notions.

On distingue :

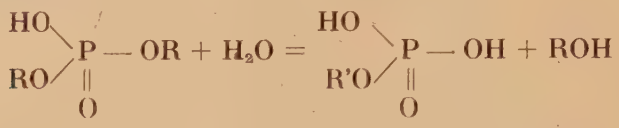
1° *Les phosphomonoestérases* qui catalysent l'hydrolyse des monoesters de l'acide orthophosphorique en acide phosphorique et alcool ou phénol, selon la réaction générale :



On les rencontre : dans les os, le rein, l'intestin, le foie, les bactéries, les levures, les champignons, les graines.

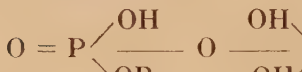
2° *Les phosphodiestérases,* catalysant l'hydrolyse des

diesters de l'acide orthophosphorique en acide phosphorique et monoester, selon la réaction générale :



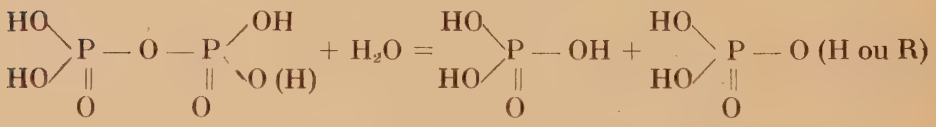
On les rencontre : dans le foie, le rein, les levures, le son, les champignons, les bactéries, les venins de serpent.

3° *Les pyrophosphatases,* catalysant l'hydrolyse des pyrophosphates (sels et esters de l'acide pyrophosphorique



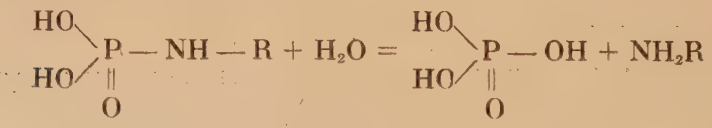
) organiques ou inorganiques

en acide orthophosphorique et ester orthophosphorique, selon la réaction générale :



On les rencontre : dans le foie, le rein, l'intestin, les hématies, les levures, les bactéries, les champignons et les graines.

4° *Les phosphoamidases* qui catalysent l'hydrolyse des amides orthophosphoriques en acide phosphorique et amine, selon la formule générale :



On les trouve : dans le rein, les levures, le son et les moisissures.

5° *Les phosphatases spécifiques,* agissant sur un substrat bien déterminé ou un petit groupe de substrat. Elles comprennent :

a) *L'adénosinetriphosphatase,* catalysant l'hydrolyse des adénosinestriphosphates. Cet enzyme se manifeste particu-

lièrement dans les muscles, mais on le rencontre aussi dans les graines;

b) *Les hexosediphosphatases;*

c) *Les lécithinephosphatases;*

d) *Les phytases;*

e) *Les 5 nucléotidases;*

f) *Les polynucléotidases;*

g) *Les cholinephosphatases;*

h) *Les métaphosphatases;*

i) *Les polyphosphatases,* agissant sur les esters des acides triphosphoriques et leurs homologues.

L'énumération des phosphatases spécifiques ne se borne pas à celles qui viennent d'être citées.

Le nombre de ces phosphatases spécifiques restant à découvrir est certainement considérable.

Dans le premier groupe, celui des phosphomonoestérases, on distingue quatre phosphatases isodynames.

Folley et Kay les ont désignées sous les noms de phosphatases $A_1$, $A_2$, $A_3$, $A_4$, et Roche [120] sous les noms de phosphomonoestérases I, II, III, IV.

Le *p*H optimum de $A_1$, ou phosphomonoestérase I, est compris entre 8,8 et 9,4. Cette phosphatase $A_1$ est encore appelée *phosphatase alcaline.*

Le *p*H optimum de $A_2$ est entre 5 et 5,4; celui de $A_3$ entre 3,9 et 4,2; celui de $A_4$ entre 5,4 et 6,2.

Ces trois *phosphatases* acides ont un *p*H optimum très voisin.

En histochimie, on ne peut différencier $A_2$ de $A_3$ et $A_4$; cependant, d'après Lison [89], la phosphatase acide des histochimistes serait $A_2$.

On décrit aussi : des phosphodiestérases, des pyrophosphatases, des phosphoamidases isodynames.

Selon Willstætter, une portion seulement des enzymes contenus dans une cellule peut en être retirée par dissolution simple dans l'eau ou les mélanges hydroalcooliques, sans mise en jeu d'éléments modifiant la constitution chimi-

que. Ce sont les *lyoenzymes*. L'autre portion est fixée aux éléments insolubles du cytoplasme, soit par des forces de Van der Walls, soit par des valences principales. Ce sont les *desmoenzymes*.

On décrit donc, pour les phosphatases, des lyo et des desmoenzymes.

Le traitement par l'alcool ou l'acétone précipite les phosphatases. Les lyophosphatases se redissolvent lorsqu'on les traite par l'eau. Seules, elles peuvent être purifiées; mais du fait de cette hydrosolubilité, elles échappent aux investigations histochimiques qui ne détectent que les *desmophosphatases*. Florkin, cependant, émet des doutes sur l'existence de véritables lyoenzymes protoplasmiques.

### Extraction des phosphatases

On extrait, en général, les phosphatases par macération aqueuse de tissus broyés. Deux facteurs interviennent, ce sont : le temps d'extraction (des processus d'autolyse pouvant modifier le degré d'activation) et le *p*H.

La phosphatase alcaline ($A_1$) de l'intestin et du rein a été obtenue à l'état cristallisé par Nguyen van Thoaï, Roche et Sartori [103], en 1944. Bailey et Webb ont à leur tour purifié la pyrophosphatase alcaline de *p*H optimum 7,8, du rein et des levures.

### Constitution chimique

Selon l'hypothèse générale de Bertrand, Von Euler et Willstatter, les enzymes seraient constitués : d'un groupement prosthétique (coenzyme) et d'une protéine spécifique (apoenzyme). Le coenzyme comprend souvent dans sa formule une vitamine hydrosoluble, mais quelquefois aussi un oligoélément, un métal par exemple.

On sait aujourd'hui que la phosphomonoestérase I, de *p*H optimum 9 et cristallisée par Nguyen van Thoaï, Roche et Sartori, appartient au groupe des enzymes à métal dissociable. C'est une *métalloprotéine magnésienne*.

On pense qu'il en est de même pour les phosphomonoestérases acides et la pyrophosphatase alcaline.

### Cinétique des actions phosphatasiques

On explique le mode d'action de la phosphatase par la fixation de l'enzyme sur le substrat avec lequel il forme une combinaison dissociable. Cette combinaison est régie par la loi d'action de masse.

On a déterminé des constantes d'affinité pour des substrats donnés. Le mode d'action est en somme conçu comme résultant de la notion d'enzyme à métal dissociable et de celle d'effecteurs. Parmi les effecteurs des activités phosphatasiques, on distingue :

Des activateurs comme $Mg^{++}$ qui active la phosphatase alcaline ($A_1$) à la concentration optimum 0,005 à 0,001 M (Jeener et Kay) et qui est d'autant plus activateur que son taux croît jusqu'à M/1.000. Cette action se maintient à M/200, M/100, puis décroît et devient négative à des taux plus élevés de concentration. $Mg^{++}$ est encore l'activateur de la phosphatase $A_4$, mais il est sans action sur $A_2$ et inhibe $A_3$.

$Ca^{++}$ et $Mn^{++}$ sont aussi des activateurs de $A_1$, ainsi que $Fe^{++}$ et $Zn^{++}$ en présence d'acides aminés.

On signale des inhibiteurs, comme les thiols, qui inhibent $A_1$, les fluorures et les oxalates qui inhibent $A_2$ et $A_3$, le phloridzoside et divers hétérosides à aglycone complexe inhibant l'action de $A_1$.

L'urine humaine renferme des substances inhibitrices des phosphatases acides (Robinson et Warren [118]).

On remarquera que ces effecteurs ont un mode d'action inversé suivant les *p*H, étant tour à tour inhibiteurs ou activateurs.

Il ne paraît pas nécessaire de s'étendre sur ces sujets qui sortent du cadre de l'histochimie proprement dite.

On se référera aux travaux de Ohlemeyer [108], de Bodansky [16], de Roche [120], Roche et Courtois [122],

Bamann et Heumüller [8], Robinson et Warren [118], Von Euler, Hahn et Saluste [46].

### Principe du dosage des activités phosphatasiques des organes et de la phosphatasémie

La mise en évidence d'une activité phosphatasique s'opère de la façon suivante :

On met en présence d'un substrat la substance à étudier, la constance du *p*H étant assurée par un mélange tampon, et l'on apprécie la mise en liberté d'ions phosphoriques après un certain temps de contact.

Dans le sang, par exemple, on dosera l'acide orthophosphorique mis en liberté par un échantillon de volume connu de sang total, de plasma ou de sérum agissant dans des conditions standardisées sur un ester phosphorique (le glycérophosphate de soude en général).

L'activité de la diastase est mesurée par le poids d'acide phosphorique libéré dans les conditions déterminées de milieu et de température réalisées pendant l'expérience. L'acide orthophosphorique libre est dosé avant et après action enzymatique. La différence entre les deux chiffres correspond à la quantité d'acide orthophosphorique séparée de l'esterphosphate par action phosphatasique. Le dosage peut porter indifféremment sur le plasma ou le sérum dont l'activité phosphatasique est à peu près semblable.

Le sang prélevé par ponction veineuse n'a pas besoin d'être rendu incoagulable; il est simplement recueilli dans un tube de verre sec et propre; deux centimètres cubes suffisent pour effectuer le dosage.

Le temps nécessaire pour obtenir le résultat est variable suivant les méthodes. La durée de contact avec le substrat sera : d'une heure dans la méthode de Bodansky; quarante-huit heures dans celle de Kay.

Il faut remarquer que les auteurs qui dosent sur le sang total contenant la phosphatase alcaline du plasma et les phosphatases acides des globules, dosent uniquement la

phosphatase alcaline du plasma lorsqu'ils opèrent à *p*H 8,8. En effet, à *p*H voisin de 9, toute phosphatase acide a perdu son activité (Cayla [25]).

Les résultats du dosage sont exprimés en *unités phosphatasiques* définies comme étant la quantité d'acide phosphorique libérée après un certain temps de mise en contact du substrat et de l'enzyme à 37° C., 38° C. ou 40° C.

Ces unités sont physiologiques, approximatives et variables dans certaines limites.

Les unités employées sont :

1° *L'unité Kay* (U. K.) : nombre de gammas de phosphore libérés en quarante-huit heures à 38° C., à *p*H 7,6, par 1 cm³ de plasma sanguin normal agissant sur du bêta-glycérophosphate de soude;

2° *L'unité Bodansky* (U. B.) : nombre de gammas de phosphore libérés en une heure à 37° C., à *p*H 8,6, par 100 cm³ de plasma sanguin normal agissant sur du bêta-glycérophosphate de soude;

3° *L'unité Roberts* (U. R.) : nombre de gammas de phosphore libérés en deux heures, à 40° C., à *p*H 8,8, par 100 cm³ de sang total agissant sur du bêtaglycérophosphate de soude;

4° *L'unité Jenner et Kay* (U. J. K.) : nombre de gammas de phosphore libérés en trois heures, à 38° C., à *p*H 8,8, par 1 cm³ de plasma agissant sur du bêtaglycérophosphate de soude;

5° *L'unité Cayla* (U. C.) : nombre de milligrammes d'acide phosphorique libérés en vingt-quatre heures par un litre de sérum ou de sang agissant à *p*H 7,6 et à 37° C. sur du bêtaglycérophosphate de soude.

Il existe des coefficients permettant de passer d'une unité à l'autre; cependant, ils ne sont qu'approchés et seulement valables lorsque les variations d'activité ne sont pas très importantes.

Dans les cas de variations considérables, on exprimera

les résultats par rapport au chiffre moyen normal, en disant que l'activité phosphatasique est doublée, triplée, quadruplée ou décuplée (Cayla).

Voici, d'après Cayla, une tableau de correspondance permettant de passer d'une unité à l'autre.

| | U. K. | U. B. | U. R. | U. J. K. | U. C. |
|---|---|---|---|---|---|
| U. K. .... | × 1 | : 25 | : 25 | : 40 | : 100 |
| U. B. .... | × 25 | × 1 | × 1 | : 1,5 | : 3,8 |
| U. R. .... | × 25 | × 1 | × 1 | : 1,5 | : 3,8 |
| U. J. K. .. | × 40 | × 1,5 | × 1,5 | × 1 | : 2,5 |
| U. C. .... | × 100 | × 3,8 | × 3,8 | × 2,5 | × 1 |

### Variations physiologiques et pathologiques de l'activité phosphatasique. — Intérêt clinique.

Les chiffres moyens de la phosphatasémie chez un adulte sain sont : *0,15 U. K.* ou *3,80 U. B.* ou *4 U. R.* ou *6,06 U. J. K* ou *15 U. C.*

L'activité phosphatasique normale du sang diminue avec l'âge. Elle est de *9* à *10 U. B.* pour le premier âge, de *5 U. B.* pour les enfants de quatre à six ans, de *3 U. B.* pour les adultes. En unités Cayla (U. C.), le taux de la phosphatasémie est de *35* de zéro à cinq ans, de *30* de cinq à dix ans, et s'abaisse à *17* de dix ans à quinze ans, et à *15* de quinze à vingt ans.

#### A. — Variations physiologiques de l'activité phosphatasique du sang

Le fonctionnement normal de l'organisme provoque des variations appréciables de la phosphatasémie. La digestion et l'exercice musculaire entraînent une augmentation transitoire du taux de la phosphatase sanguine.

Il faudra donc, pour éviter ces variations passagères,

effectuer le dosage sur un sang prélevé à jeun et au repos (Cayla).

Pendant les trois derniers mois de la grossesse, l'activité phosphatasique augmente dans le sérum de la gestante et s'élève à un taux moyen de 30 U. C. (Cayla [25]). Dumont et Berger [42] font la même constatation et remarquent que le taux de cette phosphatase sérique augmente encore plus dans les cas de grossesse gémellaire, sans que cette augmentation soit en rapport avec le poids et le sexe des enfants. Le sang du fœtus à la naissance, d'après ces auteurs, est moins riche en phosphatase que celui de sa mère.

L'exposition aux rayons solaires ou aux rayons ultraviolets détermine une augmentation de la phosphatasémie qui peut doubler après une semaine de cure solaire au bord de la mer (Cayla [25]).

### B. — Variations pathologiques de l'activité phosphatasique du sang

Il est très intéressant pour le clinicien de connaître les variations pathologiques des activités phosphatasiques sanguines.

D'une façon générale, on reconnaît à ces variations deux origines principales : d'une part, les affections conduisant à des troubles du métabolisme phosphocalcique (infections, dysendocrinies, avitaminoses), d'autre part, les troubles de l'élimination biliaire. Dans les deux cas la phosphatasémie est très augmentée.

Dans le groupe des affections produisant des troubles du métabolisme phosphocalcique, on citera :

*Les ostéites tuberculeuses et syphilitiques, les ostéomyélites, l'ostéite fibrokystique de Recklinghausen,* qui est une ostéose parathyroïdienne dans laquelle l'hyperphosphatasémie peut atteindre 20 à 25 U. B. au lieu de 3 normalement; *la maladie de Paget,* dans laquelle l'hyperphosphatasémie peut atteindre jusqu'à dix-neuf fois le chiffre normal; *l'ostéomalacie, les ostéopathies de carence, le rachitisme,* où

l'accroissement du taux des phosphatases sériques de 100 à 200 p. 100 (Cayla [25]) s'explique par la fuite concomitante des phosphatases des parties osseuses lésées devenues inaptes à fixer le calcium (Lecoq [88]) ; enfin, *les métastases osseuses des cancers.*

Dans le groupe comprenant les troubles de l'élimination biliaire, on pensera à toutes les causes de l'ictère par rétention. La bile (riche normalement en phosphatases hépatiques), déversée dans le sang, y apportera son contingent d'enzyme.

On note encore une hyperphosphatasémie dans le *diabète, la maladie de Basedow, la tuberculose fibreuse s'accompagnant d'un bon état général.* Chez les tuberculeux cavitaires évolutifs, on constate, par contre, une baisse de la phosphatasémie.

Enfin, les phosphatases acides du sang sont particulièrement abondantes au cours du cancer de la prostate (Courtois [29], Pugeat et Berger [113]).

Le dosage des phosphatases sanguines peut être fort utile en clinique, non seulement pour étayer un diagnostic, mais encore comme test d'évolution de la maladie, et par conséquent, dans une certaine mesure, pour faire un pronostic.

On lira avec profit la publication de Sunderman [139] sur les récents progrès dans la signification et l'interprétation des mesures de l'activité phosphatasique dans les maladies.

# CHAPITRE II

## Etude histochimique des phosphatases. Les techniques histologiques de détection.

### Historique

C'est en 1939, à Chicago, que Gömori [56] publia la première technique histochimique de mise en évidence des activités phosphatasiques alcalines et acides.

La même année, Takamatsu [141] publiait, au Japon, indépendamment de Gömori, une technique analogue.

En 1941, Gömori [56] publie une revue d'ensemble sur la répartition des activités phosphatasiques et acides au niveau des tissus normaux et pathologiques, et Kabat et Furth ajoutent à ce travail de nouvelles recherches sur les tissus normaux et néoplasiques.

En 1942, Wilmer [150] détecte histochimiquement les phosphatases dans les tissus en culture.

En 1943, Bourne [18] réalise une élégante modification de la technique de Gömori - Takamatsu et donne ses premiers résultats.

Un an plus tard, Menten, Junge et Green [98] mettent au point une nouvelle méthode de recherche histochimique des phosphatases.

En 1946, Danielli [30] fait une étude critique des techniques proposées et donne une liste de fixateurs histologiques altérant peu les enzymes intracellulaires.

Toujours en 1946, Lorch [91] publie sa technique de détection des phosphatases dans les os décalcifiés. Emmel [44] fait paraître une étude sur la distribution de ces enzymes dans les cellules suivant les diverses méthodes de fixation histologique, qu'un article de Krugelis [81] va compléter, tandis que Wachstein [146 *c*] analyse les procédés de démonstration des activités enzymatiques dans les coupes de tissus.

En 1947, Cappelin [24 *b*] propose une nouvelle modification de la technique princeps de Gömori - Takamatsu que Barger [10] simplifie, par mélange de certains réactifs normalement utilisés, ce qui réduit le nombre des solutions à employer.

Lorch [91] publie une étude critique des différentes méthodes de mise en évidence des phosphatases nucléaires.

En 1948, Lison [89] présente une très intéressante revue d'ensemble sur le problème technique de la détermination histochimique des activités phosphatasiques.

Pour terminer cette énumération, on doit signaler la création de techniques nouvelles s'appliquant à la recherche histochimique des phosphatases spécifiques, telle que l'adénosinetriphosphatase dont l'étude remonte déjà à 1943 (Glick et Fischer [55]).

Dans ce bref raccourci historique, seuls les travaux les plus marquants sur les questions de technique ont été cités.

### Principe de la technique de Gömori - Takamatsu

a) *Détection histochimique de la phosphatase alcaline.* — Des coupes histologiques de pièces fixées à l'alcool à 80° ou à 95°, déparaffinées, sont plongées dans la solution suivante :

| | |
|---|---|
| Bêtaglycérophosphate de sodium à 2 p. 100.. | 20 cm³. |
| Nitrate de calcium à 2 p. 100..... | 10 cm³. |
| Eau distillée ..... | 50 cm³. |

La solution est amenée à *p*H 9,5 par une substance tampon qui est le véronal sodique à 2 p. 100 et qui est ajouté à

raison de 20 cm³. On ajoute généralement du sulfate de magnésium M/500 qui sert d'activateur.

Sous l'action de la phosphatase alcaline du tissu, l'acide phosphorique est détaché de son substrat (le bêtaglycérophosphate de sodium) et précipité *in situ* sous forme de phosphate de calcium incolore.

Le phosphate de calcium est transformé en phosphate de cobalt par immersion de la coupe dans une solution très diluée de nitrate de cobalt, encore incolore. Le phosphate de cobalt est enfin transformé en sulfure de cobalt, noir, par l'action d'une solution diluée de sulfure d'ammonium (Gömori, Takamatsu).

Le phosphate de calcium peut encore être traité sur la coupe par une simple solution de nitrate d'argent (0,5 p. 100) en présence de lumière solaire ou de rayons ultra-violets (Kossa). En cinq à trente minutes, une coloration brune révèle les zones d'activité phosphatasique.

b) *Détection de la phosphatase acide (phosphomonoestérase $A_2$).* — Les pièces seront fixées à l'acétone, car l'alcool rend inactive la phosphatase acide. Le substrat est toujours le glycérophosphate de sodium additionné d'acétate de plomb, car le phosphate de calcium est soluble en milieu acide. La solution est tamponnée à *p*H 4,7. Il se forme du phosphate de plomb qui est révélé sous forme de sulfure de plomb, noir, par action du sulfure d'ammonium (Gömori).

*Technique de Bourne concernant la recherche histochimique de la phosphatase alcaline* [18 *a*]. — Ici le phosphate de calcium est rendu visible en provoquant la formation de laque calcique d'alizarine, rouge, en faisant agir dans le milieu même d'incubation du rouge d'alizarine S (alizarinesulfonate de sodium 0,01 p. 100).

Après un temps de contact suffisant de la coupe et de la solution de Gömori additionnée de sulfate d'alizarine S, on rince rapidement à l'eau, on déshydrate, éclaircit et monte au baume de Canada suivant la technique habituelle.

Cette méthode de Bourne est très élégante mais serait moins sensible que celle de Gömori - Takamatsu et applicable seulement à la recherche de faibles activités enzymatiques (Lison [89]).

*Principe de la technique de Menten, Junge et Green* [98]. — Le substrat utilisé n'est plus le bêtaglycérophosphate de sodium, mais le phénylphosphate ou le naphtylphosphate de calcium. Le phénol, ou le naphtol, libéré par l'action diastasique, est rendu visible sur les coupes par copulation avec un sel de diazonium; il se forme un colorant diazoïque. Le diazonium employé est l'alphanaphtylamine ajouté au milieu d'incubation.

D'après Lorch [91 *b*], cette méthode est moins sensible que celle de Gömori - Takamatsu, plus complexe, et les produits sont plus difficiles à se procurer.

En rendant visible le radical alcoolique résultant de l'hydrolyse de l'ester phosphorique, cette méthode constitue une vérification de la valeur de la technique de Gömori, dans laquelle c'est le radical phosphorique de l'ester qui est rendu visible.

## Etude détaillée de la technique de Gömori - Takamatsu

### a) *Les fixateurs*

L'animal étant sacrifié, on prélève immédiatement les organes à étudier et on les plonge dans le liquide fixateur.

Gömori propose l'alcool à 90 ou 95° avec une durée de fixation de dix-huit à vingt-quatre heures. Danielli [30] fixe durant deux heures à l'alcool à 80°; Kabat et Furth, Emmel, Bourne, Deane, Dempsey, Moyson fixent à l'acétone à 5° C., de dix-huit à vingt-quatre heures.

Selon Emmel, Danielli et Krugelis, tous ces fixateurs ne produisent qu'une faible perte de l'activité enzymatique si le temps de fixation ne dépasse pas dix-huit à vingt-quatre heures.

Danielli a essayé une vingtaine de fixateurs, et Lison [89] retient parmi eux les deux mélanges suivants :

Alcool à 70°,
Formol à 10 p. 100,
Pyridine à 20 p. 100
ou Alcool à 80°,
Pyridine à 25 p. 100,

avec une durée de fixation de deux heures.

Cappelin [24 *b*] évalue à 20 p. 100 la diminution de l'activité phosphatasique du cortex rénal fixé à l'alcool, déshydraté et tenu durant vingt-quatre heures à 56° C.; il préfère une fixation au chloroforme qui, selon lui, ne diminue l'activité enzymatique que de 2 p. 100. Après cette fixation, l'auteur préconise la coupe à la congélation.

L'acide acétique et trichloracétique détruisent le ferment ainsi que le sublimé et le bichromate de potasse; on ne pourra donc pas utiliser les fixateurs histologiques habituels tels que : liquide de Bouin, Zenker, Tellyesniczky, Von Leuhossek.

L'alcool à 80° et l'acétone à 4° C. (durée de fixation : douze à vingt-quatre heures) concilient bien la fixation histologique et la conservation de la diastase.

*Il y a intérêt, d'ailleurs, à avoir de bonnes fixations histologiques au prix d'une moins bonne conservation enzymatique.*

Le procédé de fixation le meilleur semble bien être le *freezing drying* d'Altmann - Gersh. L'isopentane et le butane, en présence d'acide sulfurique concentré et desséché dans le vide, créent un abaissement de température de l'ordre de — 40 à — 78° C. Les tissus sont conservés et fixés durant une à deux semaines, puis déshydratés durant quatre heures dans l'alcool absolu.

Ce procédé n'est pas à la portée de tous les laboratoires.

Dans les expérimentations personnelles dont il sera question au cours de cette étude, c'est l'alcool à 80° qui a été employé comme fixateur, durant deux heures, suivant

les directives de Danielli. Nous avons également utilisé l'alcool à 95° et l'acétone refroidie à 4° C., durant dix-huit heures. Les résultats obtenus sont sensiblement les mêmes.

### b) *Inclusions et coupes*

On peut inclure à la celloïdine, à la paraffine, au Scurol (Canivenc et Mayer) ou pratiquer des coupes à la congélation.

1° *Celloïdine.* — D'après Gömori, les coupes à la celloïdine peuvent être plongées dans la solution-substrat sans préparation préalable. Nous n'avons pas l'expérience de ces inclusions.

2° *Paraffine.* — Après fixation et déshydratation, on éclaircit les pièces dans le xylol (trois bains), durant six à vingt-quatre heures; on les inclut ensuite dans des bains de paraffine (quatre heures) à 56° C., température à ne jamais dépasser.

Après l'inclusion, les blocs sont débités en rubans minces par le microtome, puis ces rubans sont étalés et collés sur lame. Les coupes sont alors prêtes à être utilisées après vingt-quatre heures de séchage à l'étuve.

3° *Scurol.* — Outre la paraffine, nous avons employé comme milieu d'inclusion certains polymères d'oxyde d'éthylène tels que le Scurol et le Carbowax, récemment préconisés par Canivenc et Mayer *(C. R. Société des Anatomistes,* Lyon, 1947).

Ces substances, solides à la température ordinaire, présentent l'aspect de la paraffine, mais possèdent cette particularité intéressante d'être solubles dans l'eau et, de plus, d'être absolument inertes.

Grâce à ces substances, la déshydratation des pièces est évitée et le temps des opérations extrêmement réduit, ce qui est appréciable pour la détection histochimique des enzymes.

On inclut et on coupe, comme pour la paraffine. L'étale-

ment se fait avec de l'eau gélatinée, et la coupe est séchée au papier Joseph, puis trempée dans l'alcool à 95°, après quoi on la collodionne pour éviter la dessiccation. Les coupes sont alors montées comme d'habitude.

4° *Coupes à la congélation.* — Les coupes à la congélation donnent des images où l'activité phosphatasique est plus fortement mise en évidence lors de la coloration, mais l'épaisseur des coupes, nécessaire pour certains tissus, est souvent gênante pour la précision des images microscopiques.

### c) *La réaction de Gömori*

Après déparaffinage (si l'on a affaire à des coupes incluses dans la paraffine), les coupes sont lavées à l'eau distillée durant dix à soixante minutes. Pour celles qui sont incluses dans le Scurol, l'utilisation est immédiate après collodionnage, et on peut directement laver à l'eau distillée.

Après le lavage, les coupes sont plongées dans le milieu de Gömori préparé extemporanément. La composition de ce milieu a été donnée plus haut, nous la rappelons brièvement :

| | |
|---|---|
| Bêtaglycérophosphate de sodium à 2 p. 100.. | 20 cm³. |
| Véronal sodique à 2 p. 100 ..... | 20 cm³. |
| Nitrate de calcium à 2 p. 100 ..... | 10 cm³. |
| Eau distillée ..... | 50 cm³. |

Le *p*H alcalin de la solution de véronal sodique à 2 p. 100 est vérifiée au *p*Hmètre.

La durée de mise en contact des coupes avec ce milieu est de quatre heures, dans une étuve à 37° C. On fait incuber dans les mêmes conditions, une coupe témoin dans une solution dans laquelle les 20 cm³ de bêtaglycérophosphate de sodium sont remplacés par 20 cm³ d'eau distillée.

Après quatre heures d'incubation, les coupes sont rincées dans une solution à 2 p. 100 de nitrate de calcium, durant cinq minutes, puis plongées dans une solution de nitrate de cobalt à 2 p. 100, durant deux minutes, et rincées rapi-

dement à l'eau distillée, une minute (temps critique). On étend alors sur les coupes quelques gouttes d'une solution diluée de sulfure d'ammonium (V à X gouttes pour 50 $cm^3$ d'eau distillée), une minute. Les coupes sont enfin lavées à l'eau courante, cinq à dix minutes (nouveau temps critique), déshydratées à l'alcool, éclaircies au xylol phéniqué et xylol pur, et montées rapidement au baume de Canada ou à l'essence de bergamote.

Ces dernières opérations doivent être réalisées en cinq minutes. L'activité phosphatasique est bien mise en évidence dans les préparations sous l'aspect d'un précipité noir de sulfure de cobalt. Il est parfois nécessaire de différencier, si le précipité est trop épais; pour cela, on lave davantage à l'eau, ou l'on fait agir plus longuement les alcools.

D) *Etude critique de la technique de Gömori - Takamatsu*

1° *Le problème de la spécificité de la réaction.* — La réaction de Gömori - Takamatsu est de type indirect : glycérophosphate de sodium - phosphate de calcium - phosphate de cobalt - sulfure de cobalt.

Ne serait-il pas possible que l'un ou l'autre des réactifs employés soit adsorbé par des cellules ? Ce réactif serait alors révélé comme la phosphatase recherchée.

Lison [89] a montré que si l'on traitait une coupe par le nitrate de cobalt puis, après lavage, par le sulfure d'ammonium dans les mêmes conditions que lors de la réaction de Gömori, on constatait un brunissement de la préparation, surtout au niveau des noyaux. Ce brunissement, d'ailleurs léger, provenant d'une faible adsorption du cobalt par la coupe, n'a rien de comparable au précipité noir, intense, bien localisé de la réaction de Gömori.

On sait aussi que le traitement au sulfure d'ammonium produit le noircissement du fer ionisable par formation de sulfure de fer (réaction de Quincke). Or, le sulfure de fer et le sulfure de cobalt ne peuvent pratiquement pas être distingués l'un de l'autre dans les coupes histologiques.

La détermination du sulfure de fer consiste à le transformer en ferricyanure ferreux ou bleu de Turnbull, par une solution acide de ferricyanure de potassium (réaction de Tirmann - Schmeltzer).

La réaction de Gömori doit donc toujours être contrôlée. Pour cela, on fera *des préparations témoins* en supprimant par exemple le substrat, ou par chauffage à 90° C., pendant deux minutes, ou par adjonction au milieu d'incubation de CyK M/100. Le contraste entre ces témoins et les préparations traitées est toujours frappant.

Si l'on craint l'action du fer ionisable, on peut faire trois préparations : une traitée par la méthode de Gömori, une autre témoin, la dernière traitée par le ferrocyanure de potassium en solution acide. Dans cette dernière préparation, on obtient un ferrocyanure ferrique mettant en évidence, par sa couleur bleue, le fer ferrique trivalent, c'est-à-dire la forme ionisable la plus fréquente.

Pour conclure : la spécificité de la réaction de Gömori semble très suffisante. Le nombre des auteurs qui l'ont employée avec de bons résultats, la concordance avec d'autres techniques comme celle de Bourne ou de Menten, Junge et Green, témoignent suffisamment de sa valeur.

2° *Le problème de la localisation exacte de l'enzyme.* — Différentes questions peuvent se poser à cet égard :

*a)* La fixation *in situ* des phosphatases est-elle possible et n'y-a-t-il pas diffusion de la diastase ?

On constate de légers phénomènes de diffusion dépendant en grande partie d'une mauvaise fixation histologique, d'où la nécessité d'avoir les meilleures fixations compatibles avec la conservation de l'activité fermentaire (Lison [89]).

*b)* Le phosphate de calcium précipite-t-il au point exact où l'enzyme est actif ? Existe-t-il des éléments ayant une affinité particulière pour ce corps, déviant ainsi la réaction ?

Danielli a apporté la réponse en montrant :

*a)* Qu'il y a des éléments tissulaires présentant une particulière affinité pour le phosphate de calcium, ce qui n'exclut

pas le fait qu'un lieu de haute activité phosphatasique soit aussi très avide de phosphate de calcium.

*b)* Qu'il ne peut y avoir de diffusion du phosphate de calcium de l'endroit où il est libéré par l'enzyme à un endroit possédant une affinité pour le phosphate. L'expérience est simple : on prend deux coupes, l'une pratiquée dans un tissu riche en phosphatase, l'autre privée de ce ferment, mais avide de phosphate de calcium; on traite les deux coupes par la méthode de Gömori, la réaction est positive dans la première coupe, négative dans la seconde.

*c)* La concordance de la technique de Gömori, rendant visible le radical $PO_4$ avec celle où l'activité phosphatasique est révélée par le radical alcoolique de l'ester (Menten, Junge et Green [98]).

### Conclusions pour l'étude des techniques

1° La réaction de Gömori est bien spécifique, mais doit être contrôlée par des coupes témoins.

2° La fixation *in situ* est satisfaisante.

3° Si les manipulations produisent une perte de phosphatase lors de la réaction de Gömori, elles sont cependant compatibles avec une recherche histochimique précise de cet enzyme.

4° Les résultats positifs ont une grande valeur; les résultats négatifs doivent être confirmés par la recherche biochimique. Les données de l'histochimie et de la biochimie sont complémentaires.

# CHAPITRE III

## Etude de la localisation histochimique des phosphatases

Si l'on examine la classification chimique des phosphatases, on est frappé de leur nombre, chacune agissant dans des conditions bien définies de *p*H et sur des substrats auxquels elles peuvent parfois être très étroitement adaptées.

La localisation histochimique des phosphatases n'est cependant pas la même pour un organe donné, dans toutes les espèces animales; aussi, doit-on toujours spécifier, lorsqu'on parle d'activité phosphatasique, toutes les conditions dans lesquelles on les a mises en évidence et les animaux que l'on a expérimentés.

En somme, si l'on veut avoir une conception valable de l'activité phosphatasique d'un tissu ou organe, il convient : de multiplier les substrats, d'expérimenter à différents stades physiologiques, d'utiliser des espèces animales variées, d'opérer enfin le plus possible dans les limites de *p*H physiologique, ni trop acide, ni trop alcalin.

On s'est surtout occupé de glycérophosphomonoestérase alcaline, acide ou neutre, mais de nombreux auteurs (Deane [33], Dempsey et Wislocki [34]; Zorzoli et Stowell [160]; Glick et Fischer [55]; Moog et Steinbach [102 *b*]) utilisent d'autres substrats (fructosediphos-

phates, hexosediphosphates, acides nucléiques, lécithine, acide adénylique, acide adénosinetriphosphorique) et ont ainsi mis au point des techniques de recherche histochimique des *phosphatases spécifiques*.

## I. — Les phosphatases dans les constituants cellulaires en général

Il y a lieu de considérer les phosphatases au niveau du noyau et du cytoplasme des cellules.

a) *Localisation dans le noyau.* — D'une façon générale, presque tous les noyaux cellulaires présentent une localisation de phosphatase alcaline dans les nucléoles, la chromatine et, surtout, lors des mitoses, dans les chromosomes, parfois aussi dans le suc nucléaire et la membrane nucléaire.

On sait maintenant que le noyau est fait d'un complexe nucléoprotéidique qui, traité par le liquide d'Edsall (solution 0,6 M de KCl, tamponnée à *p*H 8,2 par du bicarbonate et du carbonate de soude), libère, d'une part, une fraction soluble constituée par de l'acide thymonucléique (ou acide désoxyribonucléique) ; d'autre part, une fraction insoluble riche en tryptophane, cystéine et acide zymonucléique (acide ribonucléique).

On ne décèle l'activité phosphatasique alcaline que dans les parties nucléaires riches en acide ribonucléique, c'est-à-dire dans la partie des chromosomes (*) et de la chromatine (hétérochromatine) constituée par l'acide zymonucléique (Jeener [66] ; Brachet et Jeener [19] ; Krugelis [81] ; Gömori [56]). L'euchromatine, constituée par de l'acide thymonucléique, est complètement dépourvue de phosphatase.

Les nucléoles, constitués d'acides thymo et zymonucléiques et de beaucoup d'histones, sont généralement riches

(*) Les chromosomes sont chimiquement constitués d'une fraction insoluble dans le liquide d'Edsall contenant l'acide zymonucléique et des enzymes, et d'une fraction soluble qui est une désoxyribonucléohistone contenant l'acide thymonucléique.

en phosphatase alcaline. Quant au suc nucléaire, constitué de protides type « ovalbumine », il possède peu ou pas de phosphatase alcaline.

b) *Localisation dans le cytoplasme.* — La présence de phosphatase alcaline, dans le cytoplasme, est moins constante que dans le noyau. On la remarque plus spécialement au niveau de certaines condensations nucléoprotéidiques nommées « granules cytoplasmiques » par Brachet, comportant, comme le noyau, une fraction insoluble dans le liquide d'Edsall riche en acide zymonucléique, et une fraction soluble. Ici encore c'est la fraction insoluble qui porte les phosphatases alcalines (Brachet et Jeener [19]).

Le cytoplasme figuré comprend : le *chondriome*, fait d'éléments différenciés, « les *chondriosomes* », dont la localisation est variable avec la polarité cellulaire, *l'appareil de Golgi*, et des formations très basophiles riches en acide ribonucléique comme *l'ergastoplasma* de la zone infranucléaire de certaines cellules glandulaires. Ces trois éléments peuvent être pourvus de phosphatase alcaline suivant les états physiologiques; il en est de même pour certaines inclusions cytoplasmiques et édifications cellulaires (cils, plateaux striés, etc.), ainsi que pour le cytoplasme cinétique constituant le centre cellulaire dont l'importance se manifeste au cours des mitoses; de même aussi pour la membrane cellulaire qui, dans les tissus animaux, semble n'être qu'une modification d'état physique du cytoplasme sous l'effet des phénomènes de surface.

Dans la cellule, donc, c'est le noyau qui manifeste avec le plus de constance une activité phosphatasique alcaline; elle est liée, au point de vue topographique, à la localisation de l'acide ribonucléique (zymonucléique) et se trouve probablement en rapport avec la vitesse de renouvellement du phosphore de l'acide thymonucléique.

Elle joue un rôle constant dans le métabolisme particulier de la cellule, en prenant part à la synthèse des protéines cellulaires; enfin, elle ne se manifeste dans le cytoplasme

que dans la mesure où elle se trouve sollicitée dans les processus métaboliques généraux de l'organisme (métabolisme intermédiaire), auxquels la cellule collabore.

## II. — Les phosphatases dans les tissus et organes dérivés

On envisagera maintenant les diverses localisations des phosphatases au niveau des tissus et des organes qui en dérivent.

a) *Le sang.* — Les éléments figurés du sang présentent une faible activité phosphatasique alcaline, mais ils contiennent des phosphatases spécifiques, fructosediphosphatases et nucléophosphatases au niveau des polynucléaires neutrophiles et des lymphocytes (Wislocki et Dempey [154 *b*]).

Rabinovitch et Junqueira [114] ont signalé la glycérophosphatase acide dans les mégacaryocytes et les granulations des polynucléaires éosinophiles dont on connaît l'importance au cours des phénomènes allergiques.

Les hématies du sang circulant ne possèdent pas de phosphatase alcaline histochimiquement décelable. Cependant, Roche et Bullinger [121] ont démontré, par une méthode chimique, la présence d'un système phosphatasique dans les hématies, constitué par une phosphatase alcaline active à *p*H 8,5 sur le bêtaglycérophosphate de sodium et activée par le magnésium, et par une phosphatase acide active à *p*H 6,2 sur l'alphaglycérophosphate de soude et insensible à l'action du magnésium.

Wright [158], d'autre part, signale une augmentation considérable du taux de la glycérophosphatase alcaline dans les érythrocytes de Poule, normalement pauvres en cet enzyme, après injection de phénylhydrazine.

b) *Le tissu conjonctif.* — Il est constitué de diverses espèces cellulaires, de fibres conjonctives collagènes et de fibres élastiques plongées dans une substance fondamentale collagène imbibée de plasma interstitiel.

On met en évidence la glycérophosphatase alcaline et

acide au niveau des granules intracytoplasmiques très basophiles de certaines cellules conjonctives particulièrement nombreuses dans le mésentère et la glande préputiale du Rat, les *histiogènes* ou *Mastzellen* (Noback [106 *a*] ; Noback et Montagna [107 *a*]). Peut-être, pourrait-on rattacher cette activité à la présence d'héparine, ester sulfurique de polysaccharide et facteur anticoagulant constituant, selon Holmgreen, les granulations des Mastzellen. L'héparine est également présente dans l'intima des vaisseaux où l'on rencontre précisément une forte proportion de phosphatase alcaline.

Dans les fibroblastes du tissu conjonctif du Rat adulte, on trouve une glycérophosphatase acide au sein du cytoplasme et dans le noyau (Noback [106 *b*]). Dans les fibroblastes en mitose des tissus en culture, noyau et cytoplasme sont richement pourvus en phosphatase alcaline, les chromosomes du noyau étant les plus riches (Willmer [150] ; Chèvremont et Firket [26]). L'activité de la diastase est liée à la croissance du tissu en culture, et il est remarquable que les cellules des souches adaptées à la vie *in vitro* conservent le pouvoir de synthèse de la phosphatase alcaline.

Les cellules dites du tissu réticulo-endothélial présentent une grosse activité fermentaire ; les histiocytes, les cellules de Kuppfer du foie (Deane [33]) et surtout les cellules endothéliales des capillaires sont très riches en phosphatases.

L'action de substances irritantes sur tous ces éléments provoque une augmentation de l'activité phosphatasique (Ralph [116]).

Les cellules adipeuses, cellules conjonctives spécialisées dans l'élaboration des graisses et qui se groupent pour former le tissu adipeux, possèdent une forte proportion de phosphatase alcaline dans les noyaux, principalement dans les cellules adipeuses dites « brunes » de Fawcett [48].

Parmi les fibres du tissu conjonctif, c'est le réticulum

fibrillaire, constitué de fines fibres précollagènes formant la trame d'organes comme la moelle osseuse, la rate et le foie, qui paraît le plus chargé de phosphatases.

Les fibres collagènes de tous les tissus adultes normaux sont négatives lors de la réaction de Gömori, excepté le périoste (Bourne [18 *a*]), les fibres du feuillet mésothélial externe de l'arachnoïde cérébrale, le stroma collagène de l'axe des villosités arachnoïdiennes ou granulations de Pacchioni et, enfin, le stroma collagène des plexus choroïdes (Gerebetzoff, Ninane et Firket [52]).

Dans les conditions de régénération active, au cours des phénomènes de cicatrisation par exemple, les fibres collagènes manifestent une grosse activité phosphatasique. Les fibres élastiques du tissu conjonctif sont dépourvus de phosphatases.

c) *Tissus épithéliaux.* — Au niveau des tissus épithéliaux internes, l'activité phosphatasique se manifeste surtout aux pôles basaux ou apicaux des cellules, c'est-à-dire aux endroits d'activité fonctionnelle maximum et d'échanges les plus intenses, qu'il s'agisse par exemple de la bordure en brosse des cellules des tubes contournés proximaux du rein, du plateau strié des entérocytes, etc.

La mise en évidence de l'enzyme dépendra donc de l'attitude fonctionnelle du tissu.

d) *Les tissus cartilagineux, osseux et l'os.* — Le tissu cartilagineux fait de cellules cartilagineuses et d'une substance fondamentale riche en acide chondroïtinesulfurique, est dépourvu de phosphatase alcaline (Bourne [18 *a*]). Cette dernière n'apparaît qu'en fonction de la perte en sulfate de chondroïtine, lors de l'ossification enchondrale, laissant place à une réaction basique nécessaire à l'activité de la phosphatase alcaline qui dirige la précipitation des sels de chaux (Sylven). Cette chute du taux de l'acide chondroïtinesulfurique s'explique par la modification du *pH* tissulaire dans le sens de l'alcalose.

La phosphatase alcaline apparaît, au cours de l'ossifi-

cation enchondrale, dans la zone des cellules cartilagineuses hypertrophiques et dans celle des cellules dégénérées ainsi que dans la zone d'envahissement des capillaires et des ostéoblastes (ligne d'érosion).

L'os long, adulte, présente une activité phosphatasique alcaline au niveau de la gaine conjonctivo-vasculaire qui l'entoure et assure sa croissance en épaisseur, le périoste, dans les ostéoblastes de la couche ostéogène et les fibres collagènes de Sharpey du système fondamental externe (Bourne [18 *a*]; Lorch [91 *a*]) et, enfin, dans les ostéoblastes les plus voisins du canal médullaire dans la région du système fondamental interne (Bourne [18 *a*]).

Dans l'os constitué ou en fin de croissance, la phosphatase alcaline apparaît au niveau de la zone intermédiaire constituée par les systèmes de Havers et se localise dans les canaux de Havers qui contiennent les vaisseaux nourriciers et les nerfs (Lorch [91 *a*]).

La substance fondamentale de l'os est complètement dépourvue de phosphatases.

L'activité phosphatasique se manifeste exclusivement dans les parties des tissus de charpente qui sont douées d'un pouvoir de prolifération et d'une forte activité métabolique.

Les os jeunes en plein remaniement (Greep [60]; Zorzoli [159 *b*]), les foyers de fracture (Fontaine, Chevallier, Mandel, Wiest, Schuller [51]; Blum [15]) présentent une intense activité phosphatasique alcaline.

Zorzoli [159 *b*], d'ailleurs, a toujours constaté que, dans les os fœtaux, l'apparition des sels minéraux est postérieure à celle de la phosphatase, ce qui plaide en faveur du rôle de cette dernière dans l'ossification et peut-être même dans la constitution du réseau fibrocollagène de la matrice osseuse (Mac Kelvie et Mann [94]).

e) *Le tissu musculaire et le muscle strié.* — Les cellules musculaires ou fibres musculaires sont constituées par une masse cytoplasmique multinucléée, le sarcoplasma, et de

myofibrilles hétérogènes, agents actifs de la contraction.

L'hétérogénéité régulière de ces myofibrilles disposées en colonnettes explique la striation de la fibre.

On a mis en évidence (Dempsey, Wislocki et Singer [37]) la fructosediphosphatase, la lécithinephosphatase, la glucose — 1 — phosphatase alcaline et neutre, dans les noyaux, et le disque clair (segment isotrope) à l'exclusion de la strie sombre d'Amici ou strie Z.

Récemment, Soulairac et Desclaux [134 *d*] ont décelé un enzyme spécifique, l'adénosinetriphosphatase active à *p*H 5 et localisée au niveau des noyaux, des disques sombres et de la strie Z. On sait que les disques sombres constituent les parties actives contractiles de la fibre.

La technique de Soulairac et Desclaux peut être utilisée comme test fonctionnel de l'activité musculaire, et son application dans l'étude des myopathies pourra rendre certainement des services.

Le muscle strié ne possède de phosphatase alcaline que dans l'endothélium des vaisseaux (Dempsey, Roy, Greep et Deane).

*Le myocarde et le muscle cardiaque.* — La fibre myocardique ne possède pas de glycérophosphatases décelables (Bourne [18 *a*]).

Il est singulier que ce tissu, dont le métabolisme est intense, ne contienne pas de phosphatases; il est probable que des travaux futurs nous révèleront une ou des phosphatases spécifiques dans la fibre myocardique. Seuls les endothéliums des capillaires et des vaisseaux du muscle cardiaque sont pourvus de phosphatases alcalines.

f) *Le tissu nerveux et les nerfs.* — Le tissu nerveux, comme on le sait, est fait de cellules nerveuses et de fibres nerveuses.

*Les cellules nerveuses.* — La phosphatase alcaline est localisée dans le noyau. En dehors de celui-ci, on ne constate aucune phosphatase dans les cellules nerveuses, excepté le cas cité par Landow, Kabat et Newmann [85], des neurones

de la couche moléculaire du cervelet chez le Poulet. Mais la cellule nerveuse manifeste une forte activité phosphatasique acide au cours de la chromatolyse, c'est-à-dire de la dissolution de la substance chromatique de Nissl, qui suit la section d'une fibre nerveuse.

La phosphatase est localisée dans les régions du cytoplasme, précisément occupées antérieurement par les corps de Nissl, et s'affaiblit à mesure que l'on avance dans la période de restauration du matériel chromophile (Bodian et Mellors [17 *a*]).

Ce matériel étant considéré comme constitué par de l'acide ribonucléique, il est normal de penser que la phosphatase acide est en rapport avec la dégradation puis la synthèse accrues des nucléoprotéines. La phosphatase alcaline nucléaire n'étant pas affectée par le phénomène, on peut supposer que le noyau joue un rôle peu important dans le remplacement des corps de Nissl.

*Tissu de névroglie.* — L'épithélium épendymaire, élément de la névroglie épithéliale, ne contient pas de phosphatases, excepté au cours du développement embryonnaire (Moog [101 *b*]).

La macroglie, l'oligodendroglie et la microglie contiennent de la phosphatase alcaline, principalement lors des phases de prolifération active.

Il se peut que la présence de phosphatase soit en rapport avec le rôle de la névroglie dans la régulation de l'apport en glucose et dans les processus chimiques de défense du neurone.

*Fibres nerveuses et nerfs.* — Les enveloppes fibreuses de la moelle et des troncs nerveux périphériques ne possèdent pas de phosphatase alcaline (Geriebetzof, Ninane et Firket [52]).

Les cylindraxes possèdent normalement une phosphatase acide (Lassek et Hard [87]; Hard et Lassek [63]). Cet enzyme, que l'on trouve seulement dans le cylindraxe, dépend de la présence de la gaine de myéline (Hard et Lassek [63]).

De plus, au cours de la dégénérescence Wallérienne survenant après la section d'un nerf et intéressant le cylindraxe, la gaine de myéline qui se fragmente et la gaine de Schwann qui s'hypertrophie et phagocyte la myéline, on voit encore la phosphatase acide apparaître dans le cylindraxe et dans les éléments du syncytium de Schwann.

La phosphatase acide semble jouer là un rôle dans la dégradation de la myéline (Dempsey et Wislocki [34 *c*]).

Enfin, Libet [90 *b*], étudiant la fibre nerveuse d'un céphalopode, Loligo-Pealii, a mis en évidence une très forte proportion de l'adénosinetriphosphatase dans les gaines entourant les cylindraxes.

Les vaisseaux du tissu nerveux sont porteurs, comme c'est l'habitude, de phosphatase alcaline, dans l'endothélium des capillaires et l'intima des artérioles.

### III. — Les phosphatases dans les tissus en culture

Une fois reconnue la présence des phosphatases dans les différents tissus d'un organisme, on a tenté de voir si l'enzyme continuait à se manifester encore dans des tissus isolés de toutes corrélations organiques.

C'est ainsi que Wilmer [150], Chèvremont et Firket [26] pratiquèrent la réaction de Gömori sur des fragments tissulaires d'embryon de Poule mis en culture.

La phosphatase alcaline apparaît très tôt dans les myoblastes, fibroblastes et histiocytes. La plupart de ces éléments se divisent activement et la phosphatase alcaline, concentrée dans les chromosomes, souligne nettement les stades des mitoses.

Lorsque les cellules sont en repos, les nucléoles sont fortement chargés de phosphatase alcaline. La quantité de ce ferment est directement associée au taux de croissance du tissu.

Toutes ces cellules isolées, sans corrélations organiques, possèdent encore le pouvoir de synthétiser les diastases.

Ce qui nous est révélé, dans sa pureté, c'est le méta-

bolisme interne de la cellule et non plus l'activité surajoutée et spécialisée de telle ou telle cellule en vue du fonctionnement d'un organisme.

## IV. — Les phosphatases dans les tissus embryonnaires

L'apparition de certaines phosphatases au cours de l'embryogenèse se fait à des périodes variables dans les différents tissus, comme l'a montré Moog [101]. La localisation de l'enzyme varie non seulement avec les diverses époques de la vie fœtale, mais encore avec les espèces animales pour un tissu donné; cependant, elle est toujours en rapport avec l'intensité des phénomènes métaboliques accompagnant la morphogenèse ou la croissance d'un organe.

Les travaux relatifs à cette question sont très nombreux, on relatera certains d'entre eux au cours de ce travail. On se rapportera, en outre, aux travaux de Moog [101] sur la localisation de la phosphatase alcaline et acide dans l'embryon de Poulet [101 *b*] et dans la chorde dorsale de l'embryon du Poulet après huit jours d'incubation [101 *a*]; aux travaux de Zorzoli sur la localisation de la phosphatase alcaline au cours des premiers stades de développement de *Fundulus heteroclitus* [159 *a*] et dans les os fœtaux de la Souris [159 *b*]; à ceux de Wicklund [149] sur la distribution de la phosphatase alcaline dans l'œuf d'Oursin *Paracentrotus lividus;* de Krugelis sur la phosphatase alcaline dans les stades de développement d'Arbacia [82 *b*].

## V. — Les phosphatases dans les appareils et organes adultes et normaux

### a) *L'appareil circulatoire*

De toutes les formations histologiques, les vaisseaux sont parmi les plus riches en phosphatases.

C'est au niveau des endothéliums des capillaires et des cellules contractiles appartenant au périthélium (cellules de Rouget) que se localise la phosphatase alcaline. C'est

avec une grande constance que cet enzyme apparaît dans les capillaires. Ce fait est vraisemblablement en rapport avec une participation active des endothéliums aux métabolismes intermédiaires. Les cellules endothéliales élaborent peut-être des substances nécessitant la présence d'une phosphatase.

Gömori [56 *b*] a trouvé la phosphomonoestérase alcaline au niveau de l'adventice, dans les artères de moyen calibre type musculaire. Les *vasa vasorum*, petits vaisseaux nourriciers situés dans l'adventice des grosses artères, sont pourvus de phosphatase alcaline; les parois des artérioles, où il est difficile de distinguer la part revenant à l'intima et à la média, en contiennent également.

Les veines sont le plus souvent dénuées de phosphatase alcaline, tout comme les gros troncs lymphatiques, ce qui laisse supposer que les échanges sont réduits au niveau de cette catégorie de vaisseaux. Cependant, les veinules et les capillaires lymphatiques peuvent parfois donner la réaction de Gömori.

### b) *Organes lympho et hématopoïétiques*

Ces organes ont une structure commune, à savoir : une trame faite d'un réticulum fibrillaire et de cellules de nature histiocytaire dans les mailles de laquelle se répartissent des éléments de la lymphe (ganglions lymphatiques) ou du sang (rate, moelle osseuse).

Ces organes ont une très grande activité, tant par le rôle qu'ils jouent dans les défenses de l'organisme (ganglions lymphatiques) que dans la formation des éléments de la lymphe et du sang, et le constant renouvellement de ces éléments. Il est normal que l'on trouve chez eux une forte activité phosphatasique.

Wislocki et Dempsey [154 *b*] ont systématiquement recherché cette activité dans les ganglions lymphatiques, la rate et la moelle osseuse du Singe et du Rat.

D'après ces auteurs, l'enzyme, dans tous ces organes, est

le plus constamment rencontré dans l'intima des vaisseaux sanguins (artères nourricières, capillaires du ganglion lymphatique; artères, artérioles et capillaires de la rate).

Dans la rate, ce sont les corpuscules de Malpighi, dont l'ensemble constitue la pulpe blanche, qui sont les plus riches en glycérophosphatase alcaline, fructosediphosphatase et glucose — 1 — phosphatase alcaline. Dans ces corpuscules, la réaction phosphatasique prédomine dans l'intima des artères pénicillées autour desquelles se groupent les amas lymphoïdes, dans le réticulum et, enfin, dans les lymphocytes situés à la périphérie des amas lymphoïdes. Les lymphoblastes des centres germinatifs sont moins riches en enzyme.

Dans les cordons de Billroth et les sinus veineux dont l'ensemble constitue la pulpe rouge, on trouve peu de phosphatase alcaline, mais de la phosphatase acide en assez grande quantité.

Dans le ganglion lymphatique, le réticulum, les lymphocytes des follicules et des cordons folliculaires, l'intima des vaisseaux sont, comme dans la rate, riches en phosphatase alcaline. Cette dernière prédomine dans les lymphocytes éloignés des centres germinatifs et bordant les voies de la lymphe.

La réaction de Gömori est cependant moins constamment positive que dans la rate. La lécithinephosphatase, également étudiée par Wislocki et Dempsey [154 *b*], est toujours absente des organes lympho et hématopoïétiques.

Au niveau de la moelle des os, les réactions les plus intenses sont obtenues avec la fructosediphosphatase et la nucléophosphatase à *p*H 9,5.

La moelle présente un aspect moucheté très caractéristique. L'endothélium des vaisseaux sanguins (principalement les plus petits), la trame réticulaire et les cellules sanguines disposées contre la paroi des petits vaisseaux, montrent une forte activité phosphatasique.

Les myélocytes et granulocytes de la moelle donnent une

réaction de Gömori diffuse dans tout le cytoplasme et le noyau, sans que l'on puisse en discerner les types spécifiques. Les mégacaryocytes sont faiblement positifs.

De tout cela, il ressort que c'est le lymphocyte, élément très basophile, qui est le plus pourvu de phosphatase alcaline, en dehors, bien entendu, des parois vasculaires.

c) *La peau, ses annexes, et les phanères.*

1° *La peau.* — Bourne [18 *a*], Fischer et Glick [50] ont mis en évidence la phosphatase alcaline au niveau de la peau.

Elle est localisée dans l'épiderme, aux cellules du *stratum granulosum*, couche où le métabolisme semble très actif pour l'élaboration de la kératohyaline, et naturellement dans l'endothélium des capillaires dermiques.

Les glandes sébacées annexées à la peau sont riches en enzyme probablement lié à la sécrétion holocrine graisseuse du sébum.

Les glandes sudoripares possèdent aussi la phosphatase alcaline dont l'activité évoque celle des tubes contournés du rein.

2° *La glande mammaire.* — La glande mammaire doit être considérée également comme une annexe de la peau.

A l'état de repos, la glande mammaire, formée d'acini et de canaux galactophores, présente une activité phosphatasique modérée au niveau des cellules glandulaïres et myoépithéliales, ainsi que dans les canaux galactophores.

Au moment de la gestation, la glande mammaire subit une première période de prolifération des acini et des canaux galactophores, déterminée par l'action des hormones ovariennes (principes œstrogènes et progestérone), puis au moment de l'accouchement, une période de sécrétion déterminée par la chute du taux des hormones ovariennes et la libération de la prolactine pituitaire.

La phosphatase alcaline nous a paru particulièrement abondante au stade de sécrétion dans la glande mammaire

de Rates gravides injectées journellement de prolactine (voir fig. 4). L'enzyme occupe tous les éléments cellulaires des acini mammaires et les canaux galactophores.

Cette activité phosphatasique doit sans doute être rattachée à l'élaboration, par la glande, du lactose à partir du glucose sanguin et du caséinogène, phosphoprotéine du lait responsable de la coagulation sous l'action de la présure.

3° *Les phanères.* — Il n'existe, à notre connaissance, aucun renseignement sur les phosphatases des ongles, mais les poils, le développement du follicule pileux et les plumes ont été très étudiés.

Les poils se développent par un bourgeon épidermique (germe pileux) dirigé obliquement vers la profondeur du derme. Ce bourgeon est déprimé, à son extrémité, par une masse dermique et vasculaire, la papille du follicule pileux. Les cellules épithéliales qui coiffent la papille se multiplient et donnent naissance à un cône cellulaire dont la croissance se fait en sens inverse de celle du bourgeon primitif, vers la surface de la peau.

Johnson, Butcher et Bevelander [67], étudiant la répartition de la phosphatase alcaline au cours du développement du follicule pileux chez des Rats à longs poils de la race de Long Evans, ont montré qu'elle se localisait dans les noyaux des cellules conjonctives de la future papille, puis dans la gaine conjonctive externe. Jamais on ne la rencontre dans les éléments d'origine épithéliale.

Dans le follicule pileux adulte, elle reste toujours localisée au niveau de la papille et du sac fibreux, mais en très faible quantité.

Bevelander et Johnson [13 *b*] ont fait les mêmes observations à propos de la plume des Poulets.

Dans ce cas, la phosphatase est liée à la prolifération cellulaire rapide résultant de la formation du germe de la plume primitive et à l'histodifférenciation de quelques cellules spécialisées dans l'élaboration des barbules.

### d) *Appareil digestif*

On décrira la bouche avec la langue et les dents, puis le tractus digestif.

a) *La bouche : la langue et les dents.* — D'après Bourne [18 *a*], la glycérophosphatase alcaline n'apparaît pas dans les muscles et le stroma conjonctif formant le massif musculaire lingual, mais elle est très abondante au niveau des cellules superficielles de l'épithélium recouvrant les papilles linguales filiformes situées en avant du V lingual. Le cytoplasme et le noyau de ces cellules se colorent avec une égale intensité et de façon diffuse par la réaction de Gömori.

Au sujet de la muqueuse buccale et pharyngienne, nous ne connaissons que le travail de Al Hussaïni [2] qui a signalé une réaction de Gömori positive dans l'épithélium, le stroma conjonctif et l'endothélium vasculaire des cavités orales et pharyngées des Poissons.

b) *Les dents.* — Elles ont été très étudiées par Horowitz [64]; Bevelander et Johnson [13 *a*]; Engel et Furuta [45]; Greep, Fischer et Morse [61]; Verne et Hébert [144 *b*].

Tous ces auteurs s'accordent à décrire le maximum de l'activité phosphatasique dentaire au cours de l'histogenèse.

Les dents se développent aux dépens d'un bourgeon de l'épithélium gingival (lame dentaire) qui s'étend sur toute la longueur du rebord des maxillaires. Cette lame dentaire présente des zones de prolifération et d'atrophie. Les zones de prolifération correspondent aux « bourgeons dentaires » qui se développent en profondeur.

La partie inférieure de ces bourgeons se déprime en forme de capuchon, puis de cloche. Les cellules épidermiques du fond de la cloche (adamantoblastes) formeront l'émail.

Les cellules moyennes du bourgeon, correspondant aux cellules du corps muqueux de Malpighi, prennent un aspect

réticulé et arrivent à simuler un tissu conjonctif, c'est le *réticulum de l'émail* ou *gelée de l'émail*. Le tissu conjonctif, occupant la cavité de la cloche, se modifie. Les cellules conjonctives, en regard des adamantoblastes, prennent une disposition épithélioïde, ce sont les *odontoblastes* qui sécrètent l'ivoire.

Verne et Hébert [144 *b*], étudiant des mâchoires d'embryons de Rats et des Rats nouveau-nés, ont noté les lieux d'activité phosphatasique alcaline, durant le développement de la dent, période d'échanges actifs au cours de laquelle l'activité enzymatique est importante.

Ils ont mis en évidence la phosphatase alcaline :

1° Au niveau de la *gelée de l'émail;*

2° Au niveau des *adamantoblastes;*

3° Au niveau de cette assise d'éléments épithéliaux cubiques, tassés contre la couche des adamantoblastes et en dehors d'elle, et qui est appelée *stratum intermedium* ou *stratum compactum*, selon la terminologie de Prenant.

Cette zone est le siège de nombreuses mitoses et pourvoie à l'augmentation numérique des adamantoblastes dont on sait le rôle essentiel dans l'élaboration de l'émail;

4° Au niveau des *odontoblastes* et de la couche fibreuse sous-jacente, nommée *couche de Weil*, qui établit une transition entre les volumineux odontoblastes et les petites cellules conjonctives formant la masse principale du tissu de la pulpe dentaire.

Avec le progrès de la calcification de l'ivoire puis de l'émail, on constate que l'activité phosphatasique alcaline se réduit et se limite strictement à deux zones que l'on doit considérer comme ayant une importance considérable dans la formation des tissus durs de la dent, ce sont : la couche de Weil et le *stratum intermedium* de l'organe de l'émail.

Ici encore, les phosphatases paraissent en rapport avec les lieux de haute activité métabolique présidant à l'édification de l'organe.

Dès que la dent acquiert une morphologie stable et que

l'activité des processus métaboliques se ralentit, on voit progressivement diminuer l'activité phosphatasique.

c) *Le tractus digestif.* — Au niveau du tractus digestif, on peut, avec Bourne [18 *a*], opposer deux régions du point de vue de l'activité phosphatasique alcaline : d'une part, l'œsophage, l'estomac et le côlon, où l'activité de l'enzyme ne se manifeste pas au niveau des cellules épithéliales, mais seulement dans les endothéliums des capillaires du chorion; d'autre part, le duodénum, le jéjuno-iléon et le rectum, où il y a une grande abondance d'enzyme au niveau des cellules épithéliales, tandis que l'on n'en trouve pas dans les endothéliums des capillaires. La signification de ce phénomène reste encore obscure.

La structure de l'intestin grêle est caractérisée par la présence de villosités liées à la fonction d'absorption.

Ces villosités sont constituées par une petite lame conjonctive richement vascularisée, tapissée par un épithélium cylindrique spécial, l'épithélium à plateau strié.

Dans le duodénum et le jéjunum, tous les auteurs Bourne [18 *a*]; Gömori [56 *b, d*]; Emmel [44 *a, c*]; Dempsey et Wislocki [34 *c*]; Dempsey et Deane [35]; Verne et Hébert [144 *a*]; Soulairac [134 *b, c*]; Kosmann, Kaulsberz et Freeman [79]; Al Hussaïni [2]) signalent la présence de la phosphatase alcaline au niveau de la villosité.

Chez le Rat, cet enzyme se répartit suivant un gradient décroissant du duodénum à l'iléon (Soulairac), constatation confirmée par Kosmann, Kaulsberz et Freeman, chez le Chien.

La phosphatase alcaline se localise d'une façon constante dans le *plateau strié,* le *cytoplasme apical,* la *membrane nucléaire,* le *nucléole* et la *zone de Golgi* des cellules à plateau strié.

Selon Emmel [44 *a*], la zone de Golgi se présente, lors de la réaction de Gömori, comme une masse noire, occupée à la partie médiane par un canal clair.

L'association de la phosphatase alcaline avec cette forma-

tion est, d'après cet auteur, constante, caractéristique et en rapport avec la fonction d'absorption des entérocytes.

Le cytoplasme basal peut aussi présenter la réaction de Gömori, ainsi que le contenu de la lumière intestinale. La phosphatase alcaline serait donc aussi excrétée, c'est l'opinion de Kosmann, Kaulsberz et Freeman. La localisation de l'enzyme se superpose donc à la double polarité des cellules absorbantes.

On ne signale pas de phosphatase dans les cellules caliciformes ni dans les cellules argentaffines de la villosité.

Au niveau de la couche des glandes de Lieberkühn de l'intestin grêle et du gros intestin, on ne trouve la phosphatase alcaline que dans les cellules à plateau strié des glandes; elle n'existe pas dans celles des glandes de Brunner (Bourne [18 *a*]) qui sont d'ailleurs des glandes muqueuses.

L'élément commun et le plus actif de l'absorption intestinale est la cellule à plateau strié; c'est au niveau de la différenciation apicale des entérocytes que doit se localiser au maximum le processus enzymatique de l'absorption et peut-être de la sécrétion de l'enzyme.

Des préparations personnelles de duodénum de Rat confirment ce qui vient d'être dit au sujet de la localisation de l'enzyme, en précisant toutefois que nous avons toujours vu la réaction de Gömori s'étendre à toute la hauteur de la villosité.

### e) *Les glandes digestives*

Il y a lieu de considérer, dans les glandes digestives, celles qui sont purement exocrines, comme les glandes salivaires, celles où les cellules exocrines et endocrines sont nettement différenciées, comme le pancréas; enfin, celle où la même cellule est exo et endocrine, comme le foie.

Deane [33] a déterminé l'activité phosphatasique des glandes salivaires du Rat et du Singe *(Macacus rhesus)* en employant divers substrats.

La phosphatase acide est absente de ces glandes, excepté

la nucléophosphatase acide de la sous-maxillaire du Singe (cytoplasme basal des cellules muqueuses).

La phosphatase alcaline, par contre, se localise de façon variable selon les espèces étudiées (on sait que les glandes homonymes ont des caractères histochimiques différents suivant les espèces) et le caractère séreux ou muqueux des cellules glandulaires.

Ce sont les cellules des canaux excréteurs (passage de Boll et canaux de Pflügger) qui renferment le plus de la diastase.

La glycérophosphatase, nucléophosphatase, fructose-diphosphatase, glucose — 1 — phosphatase alcalines sont présentes dans la parotide du Rat, au niveau des canaux excréteurs, des capillaires accompagnant ces canaux, de tous les éléments cellulaires des acini, et dans la salive (Deane [33]).

Feyel - Cabanes [49] a précisé la localisation et le rôle de la phosphatase alcaline dans la sous-maxillaire de la Souris.

Cet auteur a trouvé une seule phosphatase dans cet organe; elle est active à *p*H 9,4, et se présente à la fois dans le noyau et le cytoplasme des cellules des formations tubulo-acineuses composant la glande.

Dans les noyaux, l'enzyme affecte la même disposition que la chromatine; on le trouve avec une égale abondance dans toutes les cellules de la glande, chez le mâle, la femelle et chez les castrats traités ou non par les hormones sexuelles.

Dans le cytoplasme, la phosphatase occupe une position infranucléaire et présente l'aspect d'un croissant de lune. L'épaisseur de ce croissant varie avec l'état fonctionnel de la cellule et se superpose au chondriome; il s'observe dans toutes les cellules de la glande tubuleuse, mais non dans celles du canal excréteur dont le contenu est lui-même très riche en cet enzyme.

La phosphatase alcaline se présente encore à travers le cytoplasme sous l'aspect de fines granulations.

Feyel - Cabanes [49] pense que cette phosphatase joue un rôle important dans le métabolisme des granulations phospholipidiques de la sous-maxillaire de Souris.

Il est curieux que le pancréas, que nous allons maintenant étudier et qui a une structure tout à fait semblable, pour sa partie exocrine, à celle de la parotide, ne présente pas d'activité phosphatasique alcaline (Jacoby [65 *a*, *c*]; Deane [33]) dans les parties fonctionnelles, alors que l'intima des artères et l'endothélium des capillaires sont toujours positifs.

Au contraire, à *p*H 7, le pancréas montre une activité phosphatasique intense, tant au niveau des acini que des îlots de Langerhans et des cellules des conduits excréteurs.

Quoique tout le cytoplasme des cellules des acini soit pourvu de la diastase, c'est la région basale occupée par l'ergastoplasma, matériel très basophile et riche en acide ribonucléique, qui la contient avec le plus d'abondance.

Au niveau des îlots de Langerhans, où l'on distingue les cellules de la périphérie (groupe alpha) et les cellules centrales (groupe bêta) sécrétrices d'insuline, on trouve une fructosediphosphatase et une nucléophosphatase alcalines localisées au groupe alpha, le groupe bêta ne présentant qu'une très faible proportion de ces diastases.

Ces différences ne sont marquées que chez le Rat; chez le Singe et chez l'Homme, les diastases sont présentes dans les deux groupes cellulaires.

Jacoby [65 *a*] signale la glycérophosphatase acide dans les acini et les îlots de Langerhans du pancréas de Chien.

*Le foie.* — Le foie joue un rôle considérable dans le métabolisme des glucides, lipides, protides et substances minérales comme le soufre et le fer, et intéresse au premier chef l'histochimiste.

Il est formé d'unités élémentaires, les lobules hépatiques, séparés par les espaces de Kiernan, parcourus par deux voies à sens unique, voie biliaire (canalicules et canaux),

allant du centre à la périphérie, et voie sanguine (capillaires sinusoïdes) allant de la périphérie vers le centre.

Les cellules composant le lobule sont agencées en cordons (travées de Remak). Chaque cellule est polyédrique; ses faces et ses angles sont creusés de gouttières qui, se réunissant aux angles avec celles des cellules voisines, forment les espaces où circulent les capillaires sanguins et qui, se réunissant au niveau des faces, forment les canalicules biliaires intralobulaires.

Le calibre des capillaires sanguins est irrégulier; leur paroi endothéliale manque en certains points, et la cellule hépatique est au contact même du sang.

Les cellules de Kuppfer, élément du système réticulo-endothélial, tapissent les capillaires sinusoïdes.

La glycérophosphatase alcaline se manifeste tout spécialement dans *les canalicules et canaux biliaires* (Gömori [56 *b, d*]; Deane [33]; Wachstein et Zak [147]; Jacoby [65 *c*]; Sherlock et Walshe [131]; Sulkin et Gardner [136]), surtout après ligature du canal cholédoque (Wachstein et Zak).

Elle se manifeste aussi dans l'endothélium des capillaires sinusoïdes (Jacoby), l'intima des artérioles, la membrane nucléaire et le nucléole des cellules hépatiques.

Si la phosphatase alcaline est très peu abondante dans le cytoplasme des cellules hépatiques, la phosphatase acide, par contre, s'y trouve en forte quantité, semblant occuper la place de l'appareil de Golgi. On trouve encore la phosphatase acide dans les cellules de Kuppfer et les canalicules biliaires.

Les auteurs ne signalent rien au sujet des fibres grillagées, réseau du soutien du parenchyme hépatique.

Selon Deane [33], la réaction de Gömori est moins accusée dans le foie des animaux nouveau-nés que dans celui des adultes.

Le foie, véritable laboratoire chimique central de l'organisme, selon l'expression de Florkin, est peu spécialisé,

mais possède, au contraire, les capacités chimiques les plus variées.

Les phosphatases hépatiques ont donc certainement des rôles très différents. La phosphatase alcaline semble excrétée par la cellule hépatique dans la bile; elle paraît donc liée à la fonction biliaire.

On sait que la glycogénolyse nécessite une phosphorylase fixant du phosphate inorganique sur le glycogène, donnant ainsi un ester de Cori, lequel sera hydrolysé par une phosphatase (peut-être la phosphatase acide cytoplasmique) libérant du glucose et du phosphate.

On sait aussi que la teneur du foie en phospholipides est remarquablement constante, et on peut supposer une action phosphatasique jouant un rôle dans ce maintien.

### f) *L'appareil respiratoire*

Il comprend des conduits aérophores, un dispositif spécial différencié en vue de l'hématose, les alvéoles et une séreuse, la plèvre.

La paroi alvéolaire est tapissée par un épithélium spécialisé, grandes plaques anucléées et petites cellules pulmonaires.

Le réseau des capillaires de l'hématose est excessivement riche et presque au contact de l'épithélium alvéolaire.

Dans la paroi alvéolaire, la charpente est constituée par des fibres collagènes, précollagènes et des fibres élastiques plongées dans une substance hyaline qu'habitent quelques cellules conjonctives histiocytaires et le riche réseau des capillaires sanguins.

Les cellules épithéliales du revêtement alvéolaire ont toutes les propriétés des histiocytes : colloïdopexie, lipopexie, grande activité fermentaire.

Sur des préparations de poumon de Rat, nous avons décelé la glycérophosphatase alcaline dans les noyaux des petites cellules pulmonaires, dans celui des cellules histiocytaires et dans l'endothélium des capillaires.

Au niveau des bronches, Bourne [18 *a*] localise la phosphatase alcaline au pôle apical des cellules de l'épithélium cilié, et Policard et Fulleringer [110] dans certaines grosses cellules du type monocyte (infiltrant le chorion ?).

On ne peut guère tirer de ces faits une conclusion concernant le rôle physiologique de la phosphatase dans le poumon.

### g) *L'appareil émulgent : reins et annexes*

L'unité fondamentale du rein est le tube urinaire. Cette organite comprend, on le sait, un appareil de filtration, le corpuscule de Malpighi, un dispositif de résorption-sécrétion (premier et deuxième tubes contournés dont la structure et la fonction sont différentes et entre lesquels se loge l'anse de Henle) et des tubes excréteurs qui se réunissent les uns aux autres pour former les tubes de Bellini.

Le corpuscule comprend :

1° Le glomérule, bouquet capillaire entre une artériole afférente et efférente;

2° La capsule de Bowmann, expansion de la vitrée du premier tube contourné;

3° Un revêtement épithélial;

4° La cavité corpusculaire.

Les parties actives du tube urinaire sont constituées par le corpuscule de Malpighi et les tubes contournés.

La localisation des phosphatases est-elle superposable à ce schéma physiologique ?

Les nombreux chercheurs (Gömori [56 *b*]; Bourne [18 *a*]; Meuten, Junge et Green [98]; Emmel [44 *c, e*]; Cappelin [24 *a*]; Wilmer [150]; Soulairac [134]; Wachstein [146 *c*]; Deane et Dempsey [31]; Lorch [91 *b*]; Kabat et Furth [70]), qui ont étudié la question, s'accordent à décrire la glycérophosphatase alcaline comme se localisant électivement à *la bordure en brosse des segments proximaux des tubes contournés* (premiers tubes contournés), dont on sait qu'ils sont les plus importants du tube

urinaire, et l'endroit où la fonction sécrétoire est la plus accusée.

La phosphatase alcaline se localise encore dans les chondriocontes apicaux et basaux (bâtonnets de Heidenhain) des cellules des segments proximaux (Menten, Junge et Green [98]; Emmel [44 *c*, *e*]) ainsi que dans les noyaux cellulaires, dans tout le néphron. Nous avons nous-même constaté ces faits dans le rein de Rat et de Lapin. Tous les tubes proximaux ne nous ont pas paru fonctionnels simultanément, la réaction de Gömori n'apparaissant pas en même temps dans tous ces tubes.

De façon beaucoup plus contingente, on peut mettre la phosphatase alcaline en évidence dans certains tubes contournés distaux (deuxièmes tubes contournés), dans la branche descendante de Henle, dans le glomérule et la capsule de Bowmann avec la méthode de Menten, Junge et Green [98]. Ces localisations sont inconstantes et varient avec les espèces animales étudiées.

Les phosphatases alcalines du rein et du duodénum semblent être différentes. Celle du rein est inhibée par les sels biliaires et non celle de l'intestin (Bodansky); celle de l'intestin est fortement inhibée par KCN M/1.000, alors que celle du rein est encore active par KCN M/100 (Emmel [44 *c*]). Il s'agit là d'expériences pratiquées *in vitro*.

On retrouve la phosphatase alcaline dans le tube sécréteur de la néphridie des Crustacés, et Kugler et Birkner [83], étudiant la néphridie de l'Ecrevisse, comparent son activité phosphatasique avec celle du rein des Vertébrés.

Comme on le verra, la phosphatase rénale semble en rapport avec l'élimination des phosphates urinaires dérivés du phosphore organique du sang.

*La vessie.* — C'est dans *les cellules de la couche génératrice profonde* de l'épithélium stratifié vésical que se localise la phosphatase alcaline, à l'exclusion des cellules de la couche superficielle et moyenne (cellules en raquette)

(Bourne [18 *a*]). Ce fait est à mettre en rapport avec l'activité de prolifération des cellules de la couche génératrice.

*Uretères.* - La même disposition de l'enzyme que dans la vessie existe au niveau de la muqueuse urétérale (couche génératrice de l'épithélium) (Bourne [18 *a*]).

### h) *Les glandes endocrines*

D'une façon générale, les glandes endocrines sont formées de cordons cellulaires anastomosés (quelquefois donnant naissance à des vésicules, comme dans la thyroïde) enchevêtrés avec de nombreux capillaires qui entrent en rapport immédiat avec les cellules.

1° *La glande pituitaire.* — Elle est faite de cordons cellulaires anastomosés, très irrigués, édifiés par trois sortes de cellules : des cellules claires, dites chromophobes; des cellules foncées, acidophiles, et des cellules foncées chargées de grains basophiles.

Abolins [1] a montré que la phosphatase alcaline, dans la pituitaire de Cobaye mâle ou femelle, se manifeste dans les cellules acidophiles (noyau et cytoplasme). L'activité la plus intense apparaît chez les femelles gravides et il n'y a aucun rapport apparent entre le nombre des granulations acidophiles et la teneur en phosphatase.

Les cellules chromophobes et basophiles n'ont pas d'activité phosphatasique décelable.

On ne peut préciser encore le rôle exact de la phosphatase et le rapport qu'elle peut avoir avec les diverses élaborations de la pituitaire.

2° *La capsule surrénale.* — Elle est formée de deux parties embryologiquement, histologiquement et fonctionnellement différentes, la corticosurrénale indispensable à la vie et la médullosurrénale productrice d'adrénaline.

Dans la corticosurrénale, c'est la zone la plus externe, ou couche glomérulaire, qui présente la plus grande richesse en phosphatase alcaline (surtout la fructosediphosphatase et la nucléophosphatase alcaline). La zone sous-jacente,

ou fasciculée, faite de cellules appelées « spongiocytes », montre une activité beaucoup plus réduite. Quant à la zone la plus interne ou zone réticulée, elle n'en montre aucune.

Au niveau de la zone glomérulée, la phosphatase alcaline abonde dans l'endothélium des capillaires sinusoïdes. Les noyaux cellulaires montrent une activité modérée de l'enzyme, et le cytoplasme une faible activité. Tels sont les résultats apportés par Dempsey, Roy, Greep et Deane [39] dans leurs travaux sur le cortex surrénal du Rat.

Dans la médullosurrénale, Bourne [18 *a*] n'a décelé aucune phosphatase alcaline.

3° *La glande thyroïde.* — L'histologie et l'histochimie de la glande thyroïde sont dominées par l'existence d'une fonction de sécrétion et d'une fonction d'excrétion, bien distinctes l'une de l'autre et paraissant régies par des mécanismes régulateurs différents.

La phase active de sécrétion, commandée par la thyréostimuline pituitaire, s'accompagne d'une image histologique de développement de l'appareil de Golgi et du chondriome des cellules de la vésicule thyroïdienne.

La phase d'excrétion dépendant de l'iodémie s'accompagne, lors de l'augmentation du taux de cet iode dans le sang, d'une image histologique dite de « repos » et qu'on devrait appeler plutôt « image de mise en réserve », consistant en un gonflement de la vésicule par la substance colloïde centrale.

Dempsey et Singer [36], étudiant la thyroïde du Rat, ont mis en évidence la phosphatase alcaline dans la partie apicale cytoplasmique des cellules des vésicules dans la phase de repos et la glycérophosphatase acide dans le noyau et le cytoplasme basal et périnucléaire des cellules des vésicules dans la phase active de sécrétion, tandis que la fructosediphosphatase acide occupe en abondance l'endothélium des capillaires. La substance colloïde reste toujours dépourvue de phosphatases (Dempsey et Singer [36]).

Il semble donc qu'il y ait balancement entre la phospha-

tase alcaline présente, lors de la phase de repos de la vésicule, et la phosphatase acide, lors de sa phase active de sécrétion, phase durant laquelle le cytoplasme est moins basophile. Or, nous le savons, la phosphatase alcaline est liée à la basophilie des éléments.

4° *Les glandules parathyroïdes.* — Comme il est de règle, la phosphatase alcaline se présente au niveau des capillaires sinusoïdes bordant les cellules et dans les noyaux des cellules (Dempsey, Roy, Greep et Deane [39]).

Rien ne permet de mettre l'enzyme en rapport avec la sécrétion de parathormone.

### 1) *L'appareil génital mâle et ses annexes*

Nous décrirons successivement l'élément noble, le testicule, puis l'épididyme, le canal déférent et les glandes annexes, vésicules séminales et prostate.

*Testicule.* — Dans le testicule, l'activité phosphatasique va de pair avec l'activité physiologique de la glande, comme l'a montré Wislocki [153] dans son étude des changements saisonniers de l'appareil génital du Daim de Virginie et du Daim Sika du Japon.

Cet auteur a constaté que, durant la période de rut, qui se situe en automne, le testicule présente une grosse activité phosphatasique alcaline et acide, tandis que durant la période de repos génital, au mois de juin, l'enzyme disparaît complètement.

Le testicule, on le sait, comprend deux glandes, l'une exocrine, constituée par les tubes séminifères; l'autre, endocrine, constituée par les cellules interstielles de Leydig.

Durant la période d'activité sexuelle, la glycérophosphatase alcaline apparaît en abondance dans la *membrane basale, le noyau (chromosomes)* et le cytoplasme des *spermatogonies,* spermatocytes et, surtout, des *spermatides,* dans la zone périnucléaire des *spermatozoïdes,* ainsi que dans le *syncytium nourricier de Sertoli.*

On la trouve encore dans le matériel cytoplasmique libéré dans la lumière des tubes, lors de la cytomorphose des spermatides en spermatozoïdes et dans la paroi des artérioles circulant dans le tissu interstitiel intertubulaire.

La phosphatase acide apparaît surtout dans le noyau des spermatides et des spermatozoïdes, ainsi que dans le cytoplasme des cellules de Sertoli.

Les cellules interstitielles sont pauvres en phosphatase alcaline, mais on décèle une fructosediphosphatase et une glycérophosphatase acide dans leur cytoplasme.

L'activité phosphatasique des tubes séminifères est probablement à mettre en rapport avec le métabolisme glucidique du spermatozoïde ou avec les remaniements nucléoprotidiques intenses de la spermatogenèse.

Ces localisations des phosphatases ont été retouvées chez le Rat par Dempsey, Roy, Greep et Deane [39], mais non par Soulairac et Thibault [135].

*Epididyme.* — Comme on le sait, l'épididyme comprend un épithélium agencé en une assise de hautes cellules cylindriques à stéréocils entre la base desquelles sont logées de petites cellules basales. L'épithélium repose sur une vitrée et une couche musculaire lisses.

Lors de la période d'activité sexuelle, la phosphatase alcaline apparaît, chez le Daim, d'après Wislocki [153], dans les *stéréocils* des cellules superficielles, dans le cytoplasme des petites cellules basales et dans les spermatozoïdes occupant la lumière.

*Canal déférent.* — Toujours chez le Daim, Wislocki découvre la phosphatase alcaline au sommet des replis formés par l'épithélium prismatique, dans la *basale* et dans l'épaisse couche musculaire sous-jacente.

Chez le Rat, Soulairac et Thibault [135] reconnaissent la présence de l'enzyme dans la couche cellulaire profonde de l'épididyme et du canal déférent.

*Les vésicules séminales.* — Chez le Daim, la phosphatase alcaline abonde dans le stroma interglandulaire, dans les

sécrétions emplissant la lumière et le cytoplasme apical des cellules épithéliales (Wislocki [153]).

Chez le Rat, au contraire, Soulairac et Thibault [135] ne trouvent jamais la diastase dans la lumière des tubes, mais ils la mettent en évidence dans le noyau et l'endoplasme cellulaire.

*La prostate.* — L'activité phosphatasique de cette glande a été très étudiée par les biochimistes et les cliniciens (Pugeat et Berger [113]; Courtois [29]; Lundquist [92]).

Au point de vue histochimique, on ne connaît que le travail de Soulairac et Thibault [135] qui, dans la prostate du Rat, localisent la phosphatase alcaline dans le noyau, l'endoplasme des cellules, mais jamais dans la lumière de la glande.

Ces faits ne peuvent guère apporter de précision sur le rôle de cette phosphatase prostatique. Il serait intéressant de rechercher les variations de l'activité phosphatasique acide et alcaline de la prostate, d'un point de vue histochimique, et de les mettre en rapport avec celles obtenues par des méthodes chimiques.

### j) *L'appareil génital femelle et ses annexes*

Le tractus génital femelle est constitué par les ovaires, (glandes endocrines et lieux de formation des ovules), par les trompes, par l'utérus (lieu de nidation et de développement de l'ovule fécondé et organe effecteur des hormones ovariennes) et par le vagin.

Comme pour l'appareil génital mâle, l'activité phosphatasique est liée aux divers processus physiologiques affectant ces organes. Peut-elle servir de test fonctionnel ?

*L'ovaire.* — L'ovaire comprend une zone corticale contenant les organites ovariens et une zone médullaire conjonctivo-vasculaire avec le hile.

Les formations nobles corticales se composent des follicules de de Graaf, de la glande interstitielle (thèque interne chez la femme), des corps progestatifs et gestatifs.

Le follicule comporte une portion épithéliale, les cellules folliculeuses (qui dans le stade de follicule cavitaire s'appellent cellules de la granulosa) entourant l'ovule et isolées du stroma cortical par une vitrée collagène, et une portion conjonctive (thèque interne et thèque externe) dont le développement dépend de la partie épithéliale.

On décrit des follicules évolutifs (primordiaux, primaires, cavitaires, mûrs, déhiscents) et des follicules involutifs (atrétiques, dégénératifs, kystiques, plissés hyperplasiés) qui fournissent, par le grand développement de leur thèque interne, le plus fort contingent d'hormone œstrogène (Dubreuil), tandis que les follicules évolutifs dirigés vers la gamétogenèse apportent un contingent plus faible.

Après la rupture folliculaire, apparaît le corps progestatif ou gestatif, double glande endocrine comportant une partie progestative dérivant de la granulosa, et une écorce thécale œstrogène. La prédominance de ces deux sécrétions détermine un cycle ovarien (période folliculinique, période œstro-progestative) modifiant la morphologie et les métabolismes des effecteurs.

La localisation de la phosphatase alcaline varie beaucoup avec les espèces animales envisagées. Cependant, on constate que l'enzyme exerce son activité avec le plus de constance dans l'endothélium des capillaires thécaux, soit des follicules, soit du corps progestatif ou gestatif (corps jaunes des auteurs).

Dans les follicules atrétiques, où il y a hyperplasie de la thèque interne, épaississement de la vitrée et dégénérescence de la granulosa, la phosphatase alcaline est encore plus abondante dans les capillaires.

Dans les corps progestatifs en dégénérescence graisseuse (corps jaunes vrais), on observe le même phénomène (Dempsey, Greep, Roy et Deane [39]).

En somme, on retrouve ici la localisation phosphatasique alcaline banale.

En ce qui concerne l'augmentation de l'enzyme au cours

du vieillissement du corps progestatif, il se peut qu'il joue un certain rôle dans le métabolisme des phospholipides.

Corner [28], dans les follicules mûrs de Cobaye, de Truie et de Chienne en œstrus, oppose le cytoplasme des cellules de la thèque interne, riche en phosphatase alcaline, à la granulosa qui n'en possède point.

Chez la Lapine, c'est l'inverse, et chez *Macacus rhesus*, thèque et granulosa sont pourvues l'une et l'autre de la phosphatase alcaline. Chez la Rate, ce sont la thèque (noyau et cytoplasme) et les capillaires qui possèdent l'équipement enzymatique (Dempsey, Greep, Roy et Deane [39]).

Chez les Chauves-Souris, *(Myotis, Pipistrellus* et *Epseticus)*, Wimsatt [152] a noté que, durant l'hiver, les follicules de de Graaf, formés en septembre, restent au repos et sont très peu riches en phosphatase alcaline, mais qu'au printemps ils reprennent leur activité, se rompent et sont abondamment pourvus de l'enzyme au niveau de la glande thécale (cellules et capillaires) et du corps gestatif.

On peut penser que la phosphatase est en rapoprt avec la phase active de sécrétion, soit de la folliculine, soit de la progestérone. Elle peut donc, dans une certaine mesure, constituer un test de sécrétion de ces hormones.

Les travaux chimiques de Stafford, Mac Shan et Meyer [140] précisent que la teneur de l'ovaire en phosphatase acide est inférieure à celle de la phosphatase alcaline. La phosphatase acide ne prend de l'importance que pendant la gestation.

*Trompes, utérus et vagin.* — Nous ne connaissons aucun travail portant sur les trompes.

La distribution de la phosphatase alcaline dans l'utérus a été étudiée par Atkinson et Elftman [6] et Atkinson et Engle [7].

Comme pour l'ovaire, l'enzyme change de localisation avec les espèces animales étudiées, et son activité est liée aux cycles fonctionnels affectant l'utérus.

Comme il est normal de le constater, il occupe avec

constance l'endothélium des capillaires du chorion, surtout ceux qui avoisinent les glandes lors de la phase folliculinique de prolifération. La teneur en phosphatase alcaline augmente d'ailleurs beaucoup dans l'utérus, lors de la phase de prolifération (Arzac et Blanchet [5]). Ce phénomène est constant pour toutes les espèces animales envisagées.

Dans l'endomètre humain, lors de la phase œstro-progestative de sécrétion, la phosphatase alcaline occupe seulement les capillaires du chorion, tandis que le glycogène est concentré dans l'épithélium; il en est de même dans les premiers mois de la gestation (Dempsey et Wislocki [34 *c*]).

Chez la Rate, dans les premiers jours de la gestation, Pritchard [112] a décrit une assez grosse activité phosphatasique alcaline dans les cellules déciduales, formes réactionnelles de la cellule conjonctive.

Chez la Chatte, les glandes utérines les plus profondément situées dans le chorion contiennent à la fois phosphatase alcaline et glycogène (Dempsey et Wislocki [34 *c*]).

Thibault et Soulairac [142], étudiant l'activité phosphatasique de l'utérus de la Rate, pensent que cette activité apparaît après castration, mais disparaît après rétablissement du cycle œstral.

Les résultats semblent donc assez paradoxaux. On peut penser, cependant, que la phosphatase alcaline joue, dans l'utérus, un double rôle :

1° Au niveau des noyaux, dans le métabolisme des nucléoprotéides, lors de la phase folliculinique de prolifération;

2° Au niveau des endothéliums capillaires voisins des vitrées glandulaires, dans l'élaboration du glycogène, lors de la phase sécrétoire.

En ce qui concerne les cellules déciduales, on peut admettre que l'enzyme est en rapport avec l'élaboration du glycogène dont elles sont chargées.

*Vagin.* — Le vagin comprend un épithélium stratifié de type Malpighien, sans couche cornée, sauf chez les Rongeurs en période d'œstrus.

Le cytoplasme et le noyau des cellules épithéliales vaginales de la Rate, lors du prœstrus, de l'œstrus et du traitement par les œstrogènes, se montrent très riches en phosphatase alcaline (Ring [117]).

Pour notre part, nous avons observé, dans les préparations de vagin de Rates traitées par les œstrogènes, une très forte activité phosphatasique alcaline au niveau de la couche germinative de l'épithélium, sous la forme d'un liseré noir doublant la vitrée sur sa face interne.

Il n'est pas possible, à priori, de mettre ce fait en rapport avec une évolution vers la kératinisation ou la mucification de l'épithélium vaginal.

### k) *Le placenta*

Rappelons que la villosité placentaire comprend une couche syncytiale, le plasmoditrophoblaste, garnie d'un plateau strié et ayant un rôle absorbant, une couche cellulaire (couche de Langhans) et un stroma conjonctivo-vasculaire constituant l'axe de la villosité.

Deux considérations dominent la question des phosphatases placentaires :

1° Le trophoblaste primitif (du moins dans l'espèce humaine et chez *Macacus rhesus)* est complètement dépourvu de phosphatases, ce qui coïncide avec la période d'hyperactivité des cellules de Langhans qui sont totalement dépourvues de ces enzymes;

2° A mesure que le placenta vieillit, que l'activité de la couche de Langhans s'atténue, que le plasmoditrophoblaste perd graduellement sa basophilie par disparition des nucléoprotéides (Dempsey et Wislocki [34]) et qu'il devient extrêmement actif en vue des échanges entre les lacs sanguins maternels et le fœtus qui se développe, la phosphatase alcaline devient de plus en plus abondante.

Elle se localise au niveau du *plasmoditrophoblaste,* où elle se dispose en une lame externe et interne laissant appa-

raître, au milieu, les noyaux. La lame externe correspond au plateau strié.

La phosphatase acide se localise également dans le plasmoditrophoblaste, où elle se montre plus précocement. La phosphatase acide se présente aussi en traces faibles dans le stroma conjonctif de la villosité.

Les phosphatases placentaires semblent plus en rapport avec les processus d'échange fœtomaternels qui se font au niveau du plasmoditrophoblaste baigné par les lacs sanguins de la mère, qu'avec la production des prolans qui sont vraisemblablement d'origine Langhansienne, et dont on sait que le taux est élevé au début de la gestation et faible à la fin.

On consultera avec intérêt la belle monographie de Dempsey et Wislocki [34], les travaux de Wislocki, Deane et Dempsey [155]; de Buno et Curi [23] et de Hard [62 *a*].

### l) *Le système nerveux*

En dehors de la phosphatase alcaline des noyaux cellulaires, on ne décèle point, par les méthodes histochimiques, la présence de cet enzyme dans le parenchyme du tissu nerveux central et périphérique, sauf au niveau de l'endothélium vasculaire (Gömori [56 *b*]; Landow, Kabat et Newmann [85]; Gerebetzoff, Ninane et Firket [52]).

L'épendyme ne donne la réaction de Gömori qu'au cours du développement embryonnaire (Moog [101 *b*]).

L'épiphyse, organe dont la structure se rapproche, suivant certains auteurs, de celles des glandes endocrines (massifs cellulaires à structure glandulaire plongés dans un stroma conjonctif ou névroglique), et dont la signification fonctionnelle est inconnue, présente une activité phosphatasique alcaline localisée au nucléole et au cytoplasme des cellules. On trouve une localisation identique de l'enzyme dans la neurohypophyse. Cette étude, faite par Wislocki et Dempsey [154 *g*], porte sur le Singe *Macaca mulatta*.

Au niveau des méninges cérébrales, le feuillet périosté constituant la couche externe de la dure-mère, le feuillet

mésothélial externe de l'arachnoïde (cellules mésothéliales et fibres collagènes) sont très riches en phosphatase alcaline ainsi que les fibres collagènes des granulations de Pacchioni. La pie-mère et la paroi des espaces de Virchow-Robin sont dépourvus du ferment.

Les plexus choroïdes, par contre, en sont très abondamment pourvus, il se pourrait même, selon Gerebetzoff, Ninane et Firket [52], que ce soit l'organe où l'activité phosphatasique alcaline soit proportionnellement la plus intense.

Ce n'est pas l'épithélium choroïdien, ni l'endothélium vasculaire, mais tout le stroma collagène qui possède le ferment, ce qui est extrêmement curieux.

Les éléments figurés du liquide céphalorachidien sont négatifs par la réaction de Gömori.

### m) *Les organes des sens*

On possède peu de travaux sur l'activité phosphatasique des organes des sens.

Bourne [18 c] a mis en évidence la phosphatase alcaline au niveau de la muqueuse des fosses nasales du Rat, du Lapin et de l'Homme. Remarquons d'ailleurs que cette muqueuse occupe la région non sensorielle des fosses nasales.

Ce même auteur [18 c] a montré que la phosphatase alcaline est présente au niveau de l'organe folié du Lapin et des bourgeons du goût répartis sur le bord interne des fossés séparant les papilles caliciformes de la langue de *Nyctalus noctula,* de *Cercopithecus griseus* et de la Souris. Chez l'Homme, la réaction est négative dans cette même région, peut-être à cause des altérations cadavériques.

Les phosphatases ont également été recherchées au niveau de la cornée, par Süllmann [138] qui les a décrit dans les cellules de l'épithélium stratifié, antérieur, et pavimenteux, postérieur; elles sont absentes dans la membrane de Bowmann, de Descemet et dans les lames conjonctives du tissu propre de la cornée.

# CHAPITRE IV

## Localisation histochimique des phosphatases dans les tissus pathologiques

Les manifestations pathologiques peuvent être considérées comme des réactions tendant à rétablir un équilibre structural et fonctionnel plus ou moins compromis par des causes nocives endogènes ou exogènes (Firket) ou comme des déviations des métabolismes.

L'activité phosphatasique varie en fonction de ces déviations et peut, par conséquent, constituer un test physiopathologique dont l'intérêt est mis en évidence dans l'étude de Sunderman [139] sur la signification et l'interprétation des mesures de l'activité phosphatasique dans les états pathologiques.

### A. — Le comportement de la phosphatase alcaline dans les états réactionnels et plus particulièrement inflammatoires de la peau.

Pour Fischer et Glick [50], dans le lupus érythémateux, le psoriasis, les réactions urticariennes, les phosphatases alcalines gardent leurs lieux d'élections normaux, mais au cours des suppurations, des granulomes pyogènes et dans les tissus cicatriciels, on trouve en abondance l'enzyme dans les histiocytes, leucocytes, fibroblastes dont l'activité est très intense à cette période.

Au cours des eczémas et de l'acné, la phosphatase alcaline est très augmentée, à la fois dans les cellules du *stratum granulosum* et dans les endothéliums vasculaires. Ce fait tient peut-être à l'alcalinité particulière de la peau caractérisant ces affections.

### B. — Comportement des phosphatases dans quelques tumeurs

1° *Tumeurs épithéliales.* — D'après Bourne [18 *a*], les épithéliomas sont dépourvus de phosphatase alcaline. Nous n'avons pas pu prendre connaissance des travaux de Biesele [14] sur le cancer cutané des Souris provoqué par le méthylcholanthrène.

Woodward [157] trouve dans le cancer du foie, chez le Rat dont la nourriture comprend du p. diméthylaminoazobenzène, une très forte augmentation de la phosphatase alcaline au niveau des éléments où cet enzyme se trouve normalement.

D'après Greenstein et Leuthardt [59], l'activité enzymatique, et particulièrement l'activité phosphatasique des tissus normaux du Rat est bien plus grande que celle des tissus néoplasiques, quelle que soit l'origine ou la nature de ces néoplasies.

Peut-être existe-t-il une ou des phosphatases spécifiques pour chaque variété de tumeurs ?

2° *Tumeurs du tissu conjonctif.* — D'après Severi [130], les sarcomes ne contiennent aucune phosphatase alcaline, tandis qu'on trouve une phosphatase acide dont l'activité est augmentée dans les réactions granulomateuses qui sont à la limite des tumeurs et des phénomènes inflammatoires.

3° *Tumeurs du système nerveux.* — D'après Landow, Kabat et Newmann [85], parmi les tumeurs du système nerveux, c'est le méningiome qui présente l'activité phosphatasique alcaline la plus intense. Il existe un parallélisme manifeste entre l'intensité de cette activité et l'abondance

des calcifications rencontrées dans ces tumeurs. L'enzyme est localisé aux endothéliums vasculaires.

Après le méningiome, c'est l'oligodendrogliome, puis l'astrocytome, le glioblastome multiforme, le médulloblastome et le schwannome qui possèdent une activité phosphatasique alcaline toujours limitée aux endothéliums vasculaires. La dégénérescence hyaline de ces tumeurs amène la disparition de l'enzyme.

### C. — Comportement des phosphatases au cours des affections hépatiques

Getty [54] constate une augmentation très importante de la phosphatase alcaline aux lieux d'élection normaux de cet enzyme dans l'hépatite focale des Bovidés. On la trouve même dans les foyers de nécrose, phénomènes non confirmés par Wachstein [146 *b*] dans les nécroses des cellules hépatiques chez d'autres Mammifères.

On a vu que les obstructions biliaires augmentent aussi considérablement la proportion de la phosphatase alcaline dans les conduits biliaires dilatés.

### D. — Les phosphatases dans l'athérome

Les athéromes sont constitués essentiellement par des infiltrations lipidiques de l'intima des artères qui se chargent de sels calcaires; ces infiltrations peuvent aussi gagner la limitante élastique interne.

Sulkin [137] a mis en évidence une particulière abondance de la phosphatase alcaline au niveau de l'intima, de la média et des plaques d'athérome dans les artères des Rats hypercholestérolémiques.

Ce phénomène pourrait se rattacher à la précipitation des sels calcaires dans la plaque d'athérome ou au métabolisme des lipides à ce niveau.

### E. — Les phosphatases dans les placentas pathologiques

Dans le placenta pré-éclamptique, le plasmoditrophoblaste voit sa phosphatase alcaline augmenter considérablement (Dempsey et Wislocki [34 *d*]). On n'est pas en mesure d'expliquer encore ce fait.

Au contraire, dans les môles hydatiformes, la villosité molaire contient très peu de phosphatase alcaline. Cette faible activité évoque celle du placenta normal très jeune.

Il y a un contraste frappant entre l'augmentation du taux des prolans et la diminution de l'activité phosphatasique de la môle hydatiforme.

### F. — Action des irradiations sur la répartition et l'activité des phosphatases des tissus et organes

Arvy, Boiffard et Gabe [3] ont étudié l'action de doses élevées de rayons X sur la répartition des phosphatases alcalines du rein, de l'intestin grêle et de la rate de Souris.

Au niveau du rein, dont on connaît la grande radiorésistance et dont les lésions histologiques sont discrètes, l'irradiation modifie très peu la répartition de la phosphatase alcaline.

Au niveau de l'intestin grêle, lorsque les lésions d'entérite rœntgénienne sont importantes, le chorion des villosités présente une intense activité phosphatasique, tandis qu'il est impossible de localiser l'enzyme dans le plateau strié et les régions apicales cytoplasmiques tant les altérations cellulaires sont grandes.

Au niveau de la rate, sept heures après irradiations, on constate une réaction pycnotique des noyaux cellulaires et la présence de nombreux macrophages. La phosphatase alcaline apparaît alors avec une grande intensité dans les corpuscules de Malpighi.

## CONCLUSION DU CHAPITRE III ET DU CHAPITRE IV

Au terme de cette étude, il est nécessaire de dégager les traits essentiels permettant une classification histochimique claire et rationnelle des phosphatases.

Il y a lieu de distinguer :

1° *Une phosphatase de constitution :* la glycérophosphatase alcaline, que l'on trouve constamment dans les noyaux cellulaires et les endothéliums vasculaires (capillaires et petits vaisseaux) de tous les tissus; c'est cette glycérophosphatase qui est révélée dans les cultures de tissus dont les cellules sont isolées de toute corrélation organique. Cet enzyme de constitution n'est pas influencé par des facteurs de régulation (hormones, vitamines, facteurs nutritifs).

2° *Des phosphatases de fonctionnement* à localisation spécifique.

Ces phosphatases agissent chacune à des *p*H déterminés sur des substrats spécifiques et sont localisées dans les parties hautement ou spécifiquement fonctionnelles de tel ou tel organe, par exemple la glycérophosphatase alcaline des cellules à plateau strié de l'intestin grêle, des cellules des tubes contournés du rein, des canalicules biliaires, la fructosediphosphatase alcaline de la moelle osseuse, la glycérophosphatase acide des cylindraxes, l'adénosinetriphosphatase alcaline du muscle strié, etc. Toutes ces phosphatases sont contrôlées et réglées dans leur activité par d'autres substances fonctionnelles (hormones, vitamines) et aussi par des modifications des facteurs nutritifs.

Cette différence entre ces deux catégories de phosphatases étant soulignée, on distinguera soigneusement, dans les tissus normaux et pathologiques, la part qui revient à la phosphatase de constitution et aux phosphatases de fonctionnement. La signification physiologique de ces deux groupes de diastases est différente.

# CHAPITRE V

## Histophysiologie des phosphatases

### A. — Phosphatases et métabolisme en général

Le rôle général des phosphatases découle de leur définition même, à savoir que ce sont des enzymes catalysant l'hydrolyse et la synthèse des esters de l'acide orthophosphorique dans les tissus.

Ces phénomènes de balancement entre phosphorylation et déphosphorylation sont en rapport, d'une part, avec les actions des substances inhibitrices ou activatrices de l'enzyme au niveau des tissus et, d'autre part, avec les réactions d'oxydoréduction.

On peut représenter d'une façon générale l'activité phosphatasique par l'équation suivante (qui obéit à la loi d'action de masse) :

$$\text{Esterphosphate} + \text{eau} \rightleftarrows \text{acide orthophosphorique} + \text{alcool.}$$

Les esterphosphates entrant dans ces réactions sont ceux contenus dans les nucléoprotéides, les phosphoprotéides et les phospholipides. L'alcool libéré par l'hydrolyse est soit du glycérol, soit un ose, soit un alcool d'acide aminé (Cayla [25]).

## B. — Phosphatases et métabolismes particuliers

### a) *Rôle des phosphatases dans le métabolisme des protides et nucléoprotéides.*

Les phosphatases participent au métabolisme des protides et nucléoprotéides des tissus embryonnaires et des tissus adultes.

Moog et Steinbach [102 *b*] ont montré que les phosphatases jouent un rôle important dans la différenciation cellulaire au cours du développement embryonnaire. Ce rôle est également très important dans les processus de cicatrisation des plaies et de consolidation des fractures.

Les nucléotides étant des composés phosphoriques, il est logique de penser que la phosphatase puisse agir en les déphosphorylant, libérant ainsi des ions phosphoriques ou en aidant à leur synthèse.

On a localisé cytochimiquement la phosphatase alcaline, ce qui aide à la compréhension de son rôle physiologique dans le métabolisme cellulaire général. Elle est liée à la fraction insoluble dans le liquide d'Edsall, des éléments du noyau et du cytoplasme. Cette fraction est constituée en grande partie par l'acide ribonucléique (zymonucléique) dont on sait le rôle dans la synthèse des protéines. La phosphatase alcaline préside au métabolisme de l'acide désoxyribonucléique (thymonucléique) qui, à son tour, provoque la formation de l'acide ribonucléique (Brachet et Jeener [19]; Jeener [66]). La teneur du noyau en phosphatase semble en rapport constant avec la vitesse de renouvellement du P de l'acide thymonucléique (Brachet et Jeener [19]).

Bradfield [20] a constaté que la phosphatase alcaline était présente dans les sécrétions protéiques des glandes séricigènes des Araignées, *Cossus* et *Tegenaria*.

De Nicola [104] a montré, de son côté, le rôle des phosphatases de la chromatine et des nucléoles dans l'élabo-

ration et la sécrétion d'acide ribonucléique dans les cellules polyploïdes d'*Asellus aquaticus*.

B) *Rôle des phosphatases dans le métabolisme des glucides*

Les phosphatases jouent, dans le métabolisme des glucides, un rôle important, surtout dans l'absorption intestinale des oses et dans le métabolisme glucidique au niveau de la glande mammaire. Dans la contraction musculaire, ce rôle est beaucoup plus faible et, dans le diabète phloridzinique, il est très improbable.

1° *Rôle des phosphatases dans la contraction musculaire.* — Les phosphatases vraies, telles que nous les avons définies précédemment, n'interviennent que fort peu dans le métabolisme glucidique de la contraction musculaire. Il n'en est pas de même pour les phosphorylases qui, elles, participent à deux stades principaux : phosphorylation du glycogène et phosphorylation du triosemonophosphate.

2° *Rôle dans le métabolisme glucidique de la glande mammaire.* — La glande mammaire en lactation réalise la synthèse de nombreux esters phosphoriques (esters glucidiques précurseurs du lactose). La phosphatase abondante de cette glande joue un rôle probablement important dans la formation de certains constituants du lait, et en particulier du lactose, en dehors de sa participation au métabolisme propre de cette glande (Cayla [25]).

3° *Rôle des phosphatases dans l'absorption intestinale des oses.* — Au niveau de l'intestin grêle, les oses sont absorbés grâce à un processus de phosphorylation.

Le glucose est transformé en hexosephosphate, complexe instable qui libère à nouveau l'acide phosphorique et le glucose au contact des capillaires de la villosité.

Selon Verzar, ces processus de phosphorylation dépendent de la corticosurrénale.

Verne et Hébert [144 *a*] ont bien étudié le rapport existant entre la phosphatase alcaline de l'intestin du Rat et

la corticosurrénale, et ont constaté qu'une double surrénalectomie, après castration pratiquée chez cet animal, amène la disparition de la phosphatase alcaline intestinale. Cet enzyme réapparaît après des injections d'extraits corticosurrénaux. Des implantations de corticosurrénale maintiennent l'activité phosphatasique de l'intestin malgré la surrénalectomie.

Soulairac [134 c] a confirmé la disparition de la phosphatase alcaline de l'intestin du Rat après surrénalectomie, et sa réactivation par injection de lactoflavine.

Tissières [143 *a*] n'observe pas de diminution de l'activité phosphatasique alcaline chez le Rat surrénalectomisé, mais il ne mentionne pas avoir castré ses animaux.

Or, en fait, l'activité de l'enzyme ne disparaît pas chez l'animal surrénalectomisé non castré.

D'après Verne et Hébert [144 *c*], les hormones sexuelles agissent sur la phosphatase intestinale en l'absence de corticostérone.

4° *Rôle de la phosphatase alcaline dans le diabète phloridzinique.* — Si l'on injecte à un animal une solution de phloridzine, on constate, quelques heures après, une glycosurie intense.

La phloridzine, extraite de l'écorce de différents arbres du genre *Prunus,* abaisse le seuil d'excrétion du glucose urinaire. En d'autres termes, sous l'action de la phloridzine, le pouvoir qu'ont les tubes urinaires de réabsorber le glucose (théorie de la filtration - résorption de Cushny) est supprimé, et le glucose passe dans l'urine. On donne à ce phénomène le nom de « diabète phloridzinique ».

D'après Lundsgaard [93] et Kalckar [71], la phloridzine empêche la réabsorption du glucose en inhibant les phénomènes de phosphorylation au niveau des tubes contournés du rein.

Pour Lambrechts [84], cette hypothèse n'est pas satisfaisante. En effet, à l'aide d'une méthode de spectrographie à l'ultra-violet, cet auteur trouve que la phloridzine injectée

s'élimine rapidement du sang pour se fixer dans les tissus sans aucune affinité particulière pour le rein, et que, chez le Chien, elle n'empêche pas l'hydrolyse enzymatique du glycérophosphate de soude injecté. De plus, il a montré que l'absence d'intestin et de rein (animal éviscéré) ne modifie pas l'intensité de la déphosphorylation. Il en conclut qu'après injection de phloridzine, il n'y a aucune inhibition de l'activité phosphatasique en général.

Saviano et Baccari [126] prétendent qu'il y a une inhibition bien réelle de la phosphatase rénale chez des animaux rendus glycosuriques par la phloridzine, tandis que Kritzler et Gutman [80] soutiennent qu'il n'y a aucun changement appréciable de l'activité phosphatasique rénale.

Beck [12], étudiant l'action de la phloridzine sur la phosphorylation du glucose dans des extraits de cortex rénal, en arrive à cette conclusion qu'il existe une véritable inhibition de la phosphatase par la phloridzine dans les *p*H acides; mais à mesure que le *p*H s'élève, cette inhibition diminue au point de devenir nulle à *p*H 9. La phloridzine, employée alors à un taux de M/100, n'a plus aucune action inhibitrice sur la phosphatase alcaline, tandis que dans la zone acide, ce taux est violemment inhibiteur.

Ces résultats contradictoires des auteurs nous ont engagé à reprendre l'expérimentation, d'un point de vue histochimique, sur un lot de Rats mâles, adultes, pesant de 80 à 95 grammes. La moitié d'entre eux ont été soumis à des injections intramusculaires quotidiennes d'une solution de phloridzine à 0,50 p. 100, ainsi préparée :

Solution avec :

| | |
|---|---|
| Phloridzine ..... | 0,10 g. |
| Bicarbonate de soude.. | 0,01 g. |
| Eau distillée..... | 20 cm³ |

On injecte à chaque animal 1 cm³ de la solution, soit 30 mg. de phloridzine par jour, durant huit jours.

L'autre moitié des lots d'animaux, prise comme témoin,

reçoit quotidiennement, durant huit jours, 1 cm³ d'une solution avec :

| | |
|---|---|
| Bicarbonate de soude.. | 0,01 g. |
| Eau distillée..... | 100 cm³ |

soit 5 mg. de bicarbonate par piqûre.

On recueille les urines de tous ces animaux et l'on pratique sur elles les réactions de Fehling, Benedict et des osazones. Seuls les animaux soumis à la phloridzine présentent les trois réactions précitées positives. Ils sont donc fortement glycosuriques.

Au huitième jour, on sacrifie tous les animaux et on prélève rapidement les reins et la première partie du duodénum. Les pièces, fixées à l'alcool à 80° (huit heures), sont incluses (paraffine ou scurol) et coupées. Les coupes sont traitées par la méthode de Gömori, dans un milieu d'incubation à *p*H 8,5.

Voici les résultats qui furent obtenus : la phosphatase alcaline apparaît avec sa localisation habituelle et la même intensité, à la fois dans le rein et le duodénum, chez les Rats injectés de phloridzine et chez les témoins.

Dans le rein, la diastase apparaît au niveau de la bordure en brosse des premiers tubes contournés et dans les noyaux cellulaires du cortex.

Les microphotos n° 1 (inclusion pratiquée dans le scurol) et n° 2 (inclusion pratiquée dans la paraffine) montrent le cortex rénal de deux Rats soumis à la phloridzine. La microphoto n° 3 est celle du rein d'un Rat témoin. La différence, si elle existe, n'est pas appréciable.

Dans le duodénum, toute la surface de la villosité est positive au niveau des plateaux striés. Ici aussi la réaction est identique chez les Rats injectés de phloridzine et chez les témoins.

Dans les conditions expérimentales réalisées, et en particulier dans la zone alcaline des *p*H, les résultats semblent montrer que la répartition et la quantité de phosphatase alcaline au niveau du rein et du duodénum de Rat atteint

de diabète phloridzinique, n'est pas ou est très faiblement influencée par ce diabète.

Ces résultats concordent avec les opinions de Lambrechts [84], Kritzler et Gutman [80]; Walker et Hudson [148] et Beck [12]. Ils semblent montrer que la phosphorylation, si elle est indispensable à l'absorption intestinale des oses (Verzar), n'est peut-être pas nécessaire à la résorption du glucose au niveau des tubes contournés du rein, du moins lorsque les *p*H tissulaires sont alcalins.

5° *Phosphatases et diabète alloxanique.* — L'alloxane provoque une nécrose des cellules bêta des îlots de Langerhans pancréatiques (due au blocage des radicaux SH des protéines de ces cellules), entraînant l'inactivation de l'insuline et, par conséquent, une hyperglycémie et une glycosurie caractérisant le diabète alloxanique.

Selon Soulairac [134 *a*], ce diabète s'accompagne de la disparition des phosphatases alcalines rénales et d'une augmentation de ces enzymes dans le duodénum du Rat.

D'après Arvy et Gabe [4], l'action de l'alloxane, à dose diabétogène, agit différemment sur la teneur en phosphatases alcalines des organes du Rat albinos.

L'alloxane amène la diminution de la phosphatase alcaline du cortex rénal, de l'iléon, des glandes annexes des appareils génitaux mâles, ne modifie pas la répartition de l'enzyme au niveau des muqueuses duodénale, vésicale, bronchique et dans les endothéliums vasculaires, et augmente au niveau de la rate, du parenchyme pulmonaire, de la médullaire des ganglions lymphatiques et dans le thymus.

On ne peut parler d'action de l'alloxane sur la phosphatase alcaline dans un sens déterminé.

c) *Rôle des phosphatases dans le métabolisme des lipides*

Selon Verzar et Laszt, l'absorption intestinale des acides gras se fait grâce à une phosphorylation (formation d'une

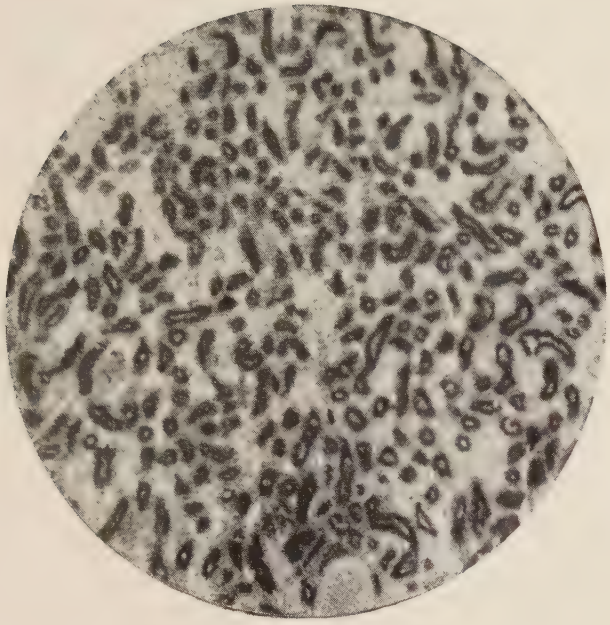


Fig. 1. — Rat (gr. × 90).

Cortex rénal de Rat injecté de phloridzine.
Réaction de Gömori - Takamatsu positive au niveau des premiers tubes contournés. Inclusion de la pièce faite au Scurol.

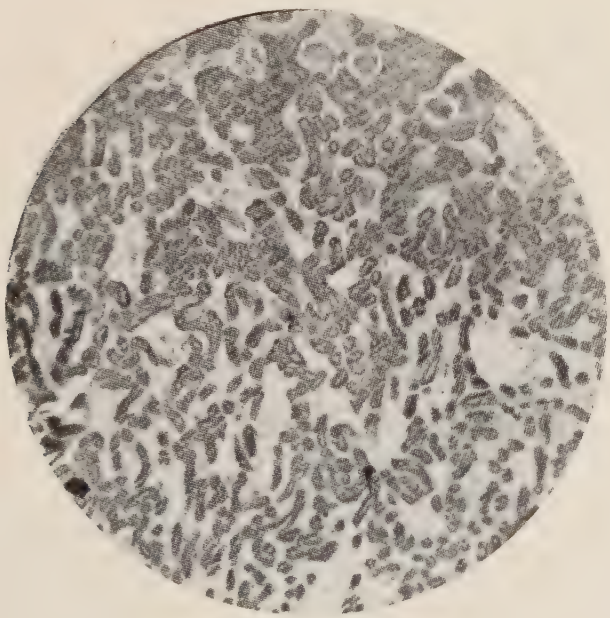


Fig. 2. — Rat (gr. × 90).

Cortex rénal d'un autre Rat injecté de phloridzine.
Réaction de Gömori - Takamatsu.
Inclusion de la pièce à la paraffine.

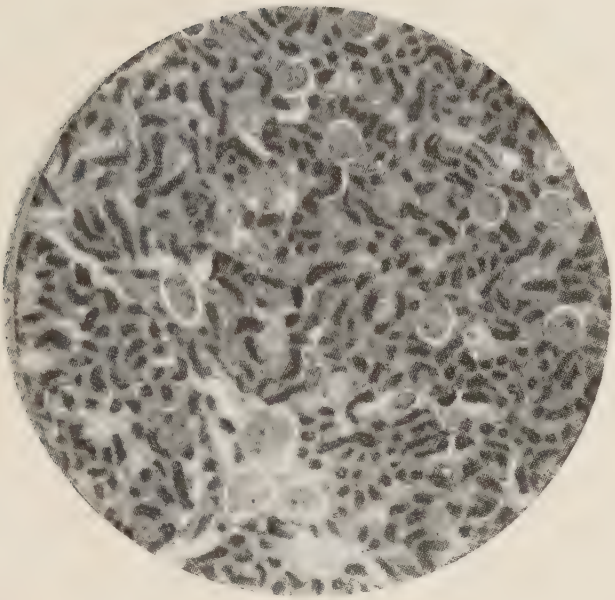


Fig. 3. — Rat (gr. × 90).
Cortex rénal de Rat témoin.
Réaction de Gömori - Takamatsu.
Inclusion de la pièce à la paraffine.

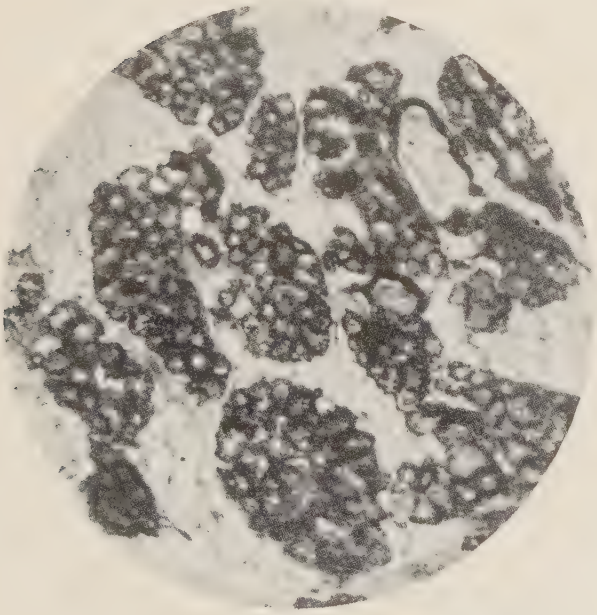


Fig. 4. — Rat (gr. × 90).
Glande mammaire de Rate gravide
injectée quotidiennement de prolactine.
Réaction de Gömori - Takamatsu.
Inclusion de la pièce au Scurol.

combinaison phosphorique, type lécithide) dépendant de la corticosurrénale.

Ces auteurs se basent sur le fait que le Chat surrénalectomisé n'est plus capable d'absorber les graisses alimentaires, tandis qu'il récupère cette capacité par injection d'extraits surrénaux.

Téorell a montré qu'une thérapeutique saline convenable se montre également susceptible de compenser la surrénalectomie.

Cette constatation, ajoutée à d'autres recherches (travaux de Frazer), permet de conclure que les hormones surrénales n'agissent pas, dans l'absorption des graisses, comme substance favorisant la phosphorylation, mais par leur pouvoir de présider au métabolisme des ions minéraux qui, régularisant le potentiel de membrane des cellules au niveau de l'intestin, expliquent l'absorption des lipides.

Il ne semble pas, jusqu'à nouvel ordre, que la phosphatase intervienne directement dans le métabolisme des lipides en ce qui concerne l'absorption intestinale de ces substances. Par contre, elle semble prendre une part importante au métabolisme des graisses phosphorées.

### d) *Rôle des phosphatases dans le métabolisme des ions minéraux*

Un des premiers rôles physiologiques connu de la phosphatase est celui qu'elle joue dans le métabolisme des ions minéraux, calcium et phosphore, au cours des phénomènes d'ossification. On verra qu'elle possède encore un rôle dans l'absorption intestinale du calcium et dans l'élimination des phosphates urinaires.

1° *Rôle dans l'ossification.* — Robison [119] et, à sa suite, Roche [120 *a, b*], Roche et Deltour [123], Roche et Mourgue [125], Slessor et Wyburn [132] ont montré que l'action de la phosphatase sur les esters phosphoriques du plasma sanguin libérait des ions $PO_4$ en surabondance,

provoquant ainsi, en présence de calcium, la précipitation de $(PO_4)_2Ca_3$.

L'ostéogenèse dépend, d'une part, de la saturation du plasma sanguin en $PO_4$ et en $Ca^{++}$ et, d'autre part, de l'action locale des phosphatases des tissus ossifiables.

D'ailleurs, toute mobilisation importante de calcium ou de phosphates dans les processus d'ostéogenèse ou d'ostéolyse, s'accompagne de modifications de l'activité phosphatasique (Cayla [25]).

D'après la conception de Glock et Gutmann, les esters phosphoriques du plasma sanguin sont une faible source de substrat pour l'enzyme des os, les ions phosphoriques sanguins ne prenant qu'une part minime à la calcification.

Dans l'ossification, il s'agit toujours, d'après ces auteurs, d'une action couplée *phosphorylase - phosphatase*. Sous l'action de la phosphorylase, le glycogène des os et organes en croissance donne, avec les esters phosphoriques plasmatiques, du glucose 1 phosphate qui est le substrat sur lequel la phosphatase va agir, au niveau des tissus en voie d'ossification. Il y a alors libération d'ions $PO_4$ qui, avec le calcium plasmatique, amènent la formation de $(PO_4)_2Ca_3$ qui se fixe sur la trame protéique des os.

Les phosphatases alcalines interviennent, non seulement dans l'ossification des Vertébrés, mais encore dans la calcification du test des Crustacés, car le tissu au niveau duquel se forme cette carapace calcaire présente une activité phosphatasique élevée pendant la croissance ou la mue, et aussi dans les incrustations calcaires d'algues marines comme *Corallina officinalis* (Desruisseaux et Baudouin [40]).

2° *Rôle des phosphatases dans l'absorption intestinale du calcium.* — Les phosphatases alcalines, très abondantes, de l'épithélium intestinal, ainsi que celles déversées par la bile dans le duodénum, libèrent de l'acide phosphorique à partir des esterphosphates alimentaires (glycérophosphates, inositophosphates ou phytine, etc.).

Cet acide peut alors agir sur les phosphates bicalciques insolubles présents dans l'intestin grêle, en entraînant la formation de phosphates monocalciques très solubles et parfaitement absorbables. Ce calcium, sous forme de phosphate monocalcique, sera lancé dans le cycle de l'ostéogenèse.

3° *Rôle des phosphatases dans l'élimination des phosphates urinaires.* — La sécrétion urinaire des phosphates, qui joue un rôle si important dans la régulation de l'homéostasie du *p*H du milieu intérieur, est la conséquence, selon Bodansky, de l'action de la phosphatase sur les phosphates sanguins avec formation intermédiaire d'un ester phosphorique.

### C. — Régulation des activités phosphatasiques

Il existe un certain nombre de travaux sur ce sujet, qui méritent d'être signalés en attendant que la question soit complètement mise au point. On peut diviser les facteurs de régulation en facteurs hormonaux et facteurs nutritifs.

#### a) *Facteurs hormonaux*

Un certain nombre d'hormones sont susceptibles de modifier des métabolismes locaux et, par conséquent, de faire apparaître ou disparaître les phosphatases qui président à ces métabolismes.

1° *Action de la glande pituitaire.* — L'ablation de la glande pituitaire ne modifie pas sensiblement l'activité ni la répartition des phosphatases au niveau du pancréas, des glandules parathyroïdes, des glandes salivaires et de la glande mammaire du Rat (Dempsey, Roy, Greep et Deane [39]).

La glande pituitaire ne semble donc pas agir directement comme agent régulateur de l'activité phosphatasique au niveau de ces organes.

En raison de son action sur l'activité de certaines glandes endocrines ou sur le métabolisme de certains tissus, on peut penser que la pituitaire peut régler l'activité phosphatasique de ces éléments. Voici quelques constatations :

Dans la corticosurrénale du Rat, l'hypophysectomie fait disparaître les phosphatases dans la zone fasciculée et la zone réticulée, tandis qu'elles persistent dans la zone glomérulée.

Dans la thyroïde, la fructosediphosphatase des capillaires disparaît, celle des parois artériolaires persiste. La glycérophosphatase n'est pas modifiée (Dempsey, Roy, Greep et Deane [39]).

Les phosphatases du testicule et du muscle strié, chez le Rat, disparaissent par hypophysectomie, elles réapparaissent à la suite d'injection d'extrait de pituitaire (Dempsey, Roy, Greep et Deane [39]).

Les auteurs ne précisent pas les lieux de disparition des phosphatases. Il est probable qu'elles persistent dans la plupart des endothéliums vasculaires, mais qu'elles disparaissent dans les points électifs de certains organes.

Dans les ovaires de la Rate, un mois après hypophysectomie, on ne trouve naturellement plus aucun gros follicule cavitaire; cependant, les capillaires thécaux des petits follicules cavitaires qui persistent accusent la présence d'une forte proportion d'enzyme, ce qui n'est peut-être qu'un cas particulier de la charge normale des petits vaisseaux en phosphatases alcalines.

En conclusion : la pituitaire ne semble pas agir directement sur les phosphatases du pancréas, des glandules parathyroïdes, des glandes salivaires, de la glande mammaire, de la thyroïde, de la zone glomérulée de la corticosurrénale.

Par contre, elle semble contrôler celles du testicule, du muscle strié, des zones fasciculées et réticulées de la corticosurrénale et peut-être celles de l'ovaire.

2° *Action de la glande thyroïde.* — D'après Ponz [111],

la thyroxine augmente beaucoup la phosphatase alcaline de l'intestin grêle du Rat.

3° *Action de la corticosurrénale.* — Comme nous l'avons vu, Verne et Hébert [144 *a*], Soulairac [134 *c*], la corticosurrénale contrôle pour une part l'activité de la phosphatase alcaline de l'intestin grêle du Rat.

4° *Action des hormones génitales.* — La glande interstitielle du testicule contrôle dans une certaine mesure, physiologiquement ou bien par analogie de structure entre la testostérone et la corticostérone, l'activité phosphatasique de l'intestin grêle du Rat. Selon Verne et Hébert [144 *c*], le propionate de testostérone fait réapparaître, chez le Rat surrénalectomisé et castré, la phosphatase alcaline du duodéno-jéjunum (beaucoup plus faiblement cependant que l'œstrone ou la progestérone). La phosphatase alcaline du rein diminue après castration et redevient normale après injection d'androgènes (Kochakian, Bartlett et Gongora [74]).

Les œstrogènes semblent participer au mécanisme de contrôle hormonal de l'activité phosphatasique du rein (Tissières [143 *b*]), de l'intestin grêle du Rat (Verne et Hébert [144 *c*]), du sérum sanguin et des os du Pigeon (Mandel, Clavert et Mandel [95]).

D'après Soulairac et Thibault [135], la phosphatase alcaline du tractus génital mâle du Rat est sous la dépendance directe de la testostérone.

### b) *Facteurs nutritifs*

Il sera maintenant très brièvement question de l'influence des facteurs nutritifs sur l'activité phosphatasique des tissus. Les travaux sont d'ailleurs encore peu nombreux.

Kochakian, Bartlett et Mac [75] nous ont appris que la phosphatase alcaline et acide hépatique et rénale du Rat normal ou surrénalectomisé n'est pas modifiée par un régime très riche en protides ou en glucides.

Wachstein et Zak [146 *b*] pensent que le jeûne ou un

régime carencé en protides augmentent fortement la phosphatase des canalicules biliaires du foie et n'affectent pas celle de l'intestin grêle.

Nous savons encore que la lactoflavine peut compenser l'ablation de la corticosurrénale en ce qui concerne l'activité phosphatasique de l'intestin grêle et du rein de Rat (Soulairac [134 *c*]).

# CONCLUSIONS GÉNÉRALES

L'étude de la localisation des phosphatases dans les tissus et dans les organes, par les méthodes histochimiques, fait faire un progrès important à l'histophysiologie de quelques grandes fonctions organiques; elle paraît situer de façon plus précise le siège de certains métabolismes dans des zones spéciales de certaines cellules.

Le rôle précis des phosphatases dans les cellules où elles se révèlent ne peut être défini qu'en fonction des propriétés chimiques qui leur sont attribuées par la chimie elle-même. La multiplicité de ces corps, voisins les uns des autres, mais différents dans leur structure ou leur action, complique le problème de l'interprétation au point de vue histophysiologique.

L'histologiste possède actuellement un certain nombre de méthodes histochimiques qui permettent de localiser dans telle ou telle partie de la cellule la position de ces enzymes, lorsqu'ils sont décelables. Les réactions employées dans ces méthodes sont bien spécifiques des phosphatases en général. On a pu pousser l'analyse jusqu'à distinguer des phosphatases alcalines, acides, neutres, des phosphatases spécifiques. La technique princeps de Gömori-Takamatsu permet une localisation très satisfaisante de la glycérophosphatase alcaline dans les cellules et tissus.

D'une façon générale, on estime que les phosphatases se localisent dans les parties des tissus ou des organes que l'on considère déjà comme des lieux de métabolisme particulièrement actifs.

Dans les tissus de charpente et de vascularisation, la phosphatase alcaline est localisée aux noyaux cellulaires et aux endothéliums vasculaires (capillaires, petits vaisseaux).

Cette phosphatase de constitution est rencontrée dans tous les tissus et n'est pas contrôlée par des facteurs de régulation.

Dans les appareils et les organes, on trouve encore des phosphatases de fonctionnement, soumises au contrôle des facteurs de régulation (hormones, vitamines, facteurs nutritifs) et dont l'activité dépend encore de l'état fonctionnel de l'organe. Les images fonctionnelles obtenues de ces enzymes sont suffisantes pour constituer des tests partiels d'activité physiologique.

La phosphatase de fonctionnement la plus connue est la glycérophosphatase alcaline que l'on rencontre dans la bordure en brosse des cellules des premiers tubes contournés du rein, le plateau strié des cellules épithéliales du duodénum, les canalicules biliaires du foie, le plasmoditrophoblaste de la villosité placentaire, les stéréocils des cellules de l'épithélium épididymaire, etc.

On s'est appliqué de même à rechercher l'enzyme dans les tissus pathologiques.

Le rôle physiologique de la phosphatase alcaline semble de tout premier plan dans le métabolisme des nucléoprotéides et des protides, dans les phénomènes d'ossification, dans l'absorption intestinale des oses et dans l'élimination des phosphates urinaires.

En dehors de ces constatations, le rôle physiologique des phosphatases alcalines dans les divers métabolismes est encore incertain.

Nous n'en voulons pour preuve que le cas particulier du diabète phloridzinique où la phosphatase alcaline ne semble pas en rapport avec la résorption du glucose au niveau du rein.

On commence tout juste à pressentir les rôles physiologiques des nombreuses autres phosphatases. On devra distinguer soigneusement les activités phosphatasiques de l'action d'un groupe d'enzyme physiologiquement voisin, les phospharylases.

## SERMENT

En présence des Maîtres de cette Ecole, de mes condisciples, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la Médecine.

Je donnerai mes soins à l'indigent et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail. Admis dans l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe; ma langue taira les secrets qui me seront confiés, et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs ni à favoriser le crime.

Reconnaissant envers mes Maîtres, je tiendrai leurs enfants et ceux de mes confrères pour des frères, et s'ils devaient apprendre la médecine ou recourir à mes soins, je les instruirais et les soignerais sans salaire ni engagement.

Si je remplis ce serment sans l'enfreindre, qu'il me soit donné de jouir heureusement de la vie et de ma profession, honoré à jamais parmi les hommes. Si je le viole et que je me parjure, puissé-je avoir un sort contraire.

Vu :
Vu : *Le Doyen*,
G. PORTMANN.

Vu, bon à imprimer :
*Le Président*,
R. FABRE.

Vu et permis d'imprimer :
Bordeaux, le 18 Juillet 1949.
Le Recteur.
A. MARCHAUD.

# BIBLIOGRAPHIE


1. Abolins (L.). — Alkaline phosphatase in various cell types of the anterior pituitary of the guinea pig. *Nature*, **6**, 556, 1948.
2. Al Hussaïni (A. H.). — Alkaline phosphatase in fish gut. *Nature*, **161**, 247, 1948.
3. Arvy (L.), Boiffard (J. A.) et Gabe (M.). — Action des doses élevées de rayons X sur la répartition des phosphatases alcalines dans quelques organes de la Souris. *C. R. Soc. Biol.*, **143**, 233, 1949.
4. Arvy (L.) et Gabe (M.). — Action de l'alloxane sur la répartition de la phosphatase alcaline chez le Rat. *C. R. Soc. Biol.*, **143**, 473, 1949.
5. Arzac (J. P.) & Blanchet (E.). — Alkaline phosphatase and glycogen in human endometrium. *J. Clin. Endocrinol.*, **8**, 315, 1948.
6. Atkinson (W. B.) & Elftmann (H.). — Effect of steroid sex hormons on distribution of alkaline phosphatase in uterus mouse. *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.*, **62**, 148, 1946.
7. Atkinson (W. B.) & Engle (E. T.). — Studies on endometrial alkaline phosphatase during human menstrual cycle and in hormon treated monkey. *Endocrin.*, **40**, 327, 1947.
8. Bamann (E.) & Heumüller (E.). — Ueber die Aktivierung von Phosphatasen durch verschiedene Metall-Ionen. *Naturwissenshaften*, **28**, 535, 1940.
9. Bamann (E.) & Salzer (W.). — Ueber das Vorkommen einer zweiten im saurengebeit. Wirksamen phosphoesterase in Tierischen organen. *Biochem. Zeitschr.*, **286**, 147, 1936.
10. Barger (J. D.). — Simplification of technic for demonstrating alkaline and acid phosphatase in tissues. *Arch. of Path.*, **43**, 620, 1947.
11. Bartelmez (G. W.) & Bensley (S. H.). — Acid phosphatase reaction in peripheral nerves. *Science*, **106**, 639, 1947.
12. Beek (L. V.). — Action of phloridzin on acid phosphatase activity on glucose phosphorylation of kidney cortex extracts. *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.*; **49**, 435, 1942.

13. Bevelander (G.) & Johnson (P. L.). — *a)* The histochemical localization of alkaline phosphatase in the developing tooth. *J. Cell. and Comp. Physiol.*, **26**, 25, 1945.

*b)* Phosphatase and glycogen in the developing feather. *Anat. Rec.*, **96**, abstract., 1946.

14. Biesele (J. J.) & Biesele (M. M.). — Alkaline phosphatase in mouse skin under methylcholanthren treatment. *Cancer Research.*, **4**, 751, 1944.

15. Blum (G.). — Phosphatase and repair of fracture. *The Lancet*, **2**, 75, 1944.

16. Bodansky (O.). — *a)* The effect of alpha aminoacids and magnesium on the activity of kidney and intestinal phosphatase. *J. Biol. Chem.*, **115**, 101, 1936.

*b)* Are the phosphatases of bone, kidney, intestine and serum identical ? The use of bile acids in their differenciation. *J. Biol. Chem.*, **118**, 341, 1937.

17. Bodian (D.) & Mellors (R. C.). — *a)* Phosphatase activity in chromatolytic nerve cells. *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.*, **55**, 243, 1944.

*b)* The regenerative cycle of motoneurons with special reference to phosphatase activity. *J. Exp. Med.*, **81**, 489, 1945.

18. Bourne (G. H.). — *a)* The distribution of alkaline phosphatase in various tissues. *Quart. J. Exp. Physiol.*, **32**, 1, 1943.

*b)* Alkaline phosphatase and vitamin C deficiency in regeneration of skull bones. *J. Anat.*, **82**, 81, 1948.

*c)* Alkaline phosphatase in taste buds and nasal mucosa. *Nature*, **161**, 445, 1948.

19. Brachet (J.) et Jeener (R.). — *a)* Phosphatase alcaline des noyaux et vitesse de remplacement du phosphore de l'acide thymonucléique. *C. R. Soc. Biol.*, **104**, 1121, 1946.

*b)* Recherches sur le rôle de la phosphatase alcaline des noyaux. *Biochim. biophys. Acta.*, **2**, 423, 1948.

20. Bradfield (J. R. G.). — Alkaline phosphatase in invertebrate sites of protein secretion. *Nature*, **156**, 876, 1946.

21. Bray (J.). — Phosphatase reaction as aid in classification of Corynebacteria. *J. Path. and Bact.*, **56**, 497, 1944.

22. Bullock (W. L.). — Histochemical studies on the acanthocephala. I. The distribution of alkaline glycerophosphatase and lipase. *Anat. Rec.*, **101**, 688, 1948.

23. Bruno (W.) & Curi (C. R.). — Distribucion de la fosfatasa alcalina en el placenta humano. *Ciencia*, **6**, 25, 1945.

24. Cappelin (M.). — *a)* Ricerca istochemica della fosfatasi alcalina renale. *Boll. Soc. Ital. Biol. Sper.*, **23**, 64, 1947.

*b)* Une technique pour le dosage cytochimique des phosphatases. *Bull. Hist. Appl.*, **24**, 155, 1947.

*c)* Fosfatasi ossea e osteogenesi in vitro. *Boll. Soc. Ital. Biol. Sper.*, **23,** 915, 1947.

25. Cayla (J.). — Valeur diagnostique de la détermination de l'activité des phosphatases sanguines. *Annales d'Endocrinologie,* **2,** 1, 1941.
26. Chèvremont (C. M.) et Firket (C. H.). — Phosphatase alcaline dans les cellules cultivées in vitro. *C. R. Soc. Biol.,* **144,** 731, 1949.
27. Cobb (J.). — Calcification of Rat cartilage and bone. *Anat. Rec.,* **103,** abstract., 531, 1949.
28. Corner (G. W.). — Alkaline phosphatase in ovarian follicles and corpora lutea. *Science,* **100,** 270, 1944.
29. Courtois (J. S.). — Les phosphatases dans le cancer de la prostate. *Semaine des Hôpitaux de Paris,* **22,** 643, 1946.
30. Danielli (J. F.). — A critical study of techniques for determining the cytological position of alkaline phosphatase. *J. Exp. Biol.,* **22,** 3, 1946.
31. Deane (H. W.) & Dempsey (E. W.). — *a)* The localization of phosphatases in the Golgi region of intestinal and others epithelial cells. *Anat., Rec.,* **93,** 401, 1945.
32. Deane (H. W.) & Greep (R. O.). — Morphological and histochemical study of Rat's adrenal cortex after hypophysectomy with comments on liver. *Am. J. of Anat.,* **79,** 117, 1946.
33. Deane (H. W.). — A cytochemical survey of phosphatases in mammalian liver, pancreas and salivary glands. *Am. J. of Anat.,* **80,** 321, 1947.
34. Dempsey (E. W.) & Wisloki (G. B.). — *a)* Observation on some histochemical reaction in the human placenta with special reference to the significance of lipoids, glycogen and iron. *Endocrin.,* **35,** 409, 1944.

*b)* Histochemical reaction associated with basophilia and acidophilia in the placenta and pituitary gland. *Am. J. of Anat.,* **76,** 277, 1945.

*c)* Histochemical contribution to physiology. *Physiol. Rev.,* **26,** 1, 1946.

*d)* Further observation on the distribution of phosphatases in mammalian placentas. *Am. J. of Anat.,* **80,** 1, 1947.
35. Dempsey (E. W.) & Deane (H. W.). — The cytological localization, substrate specificity and *p*H optima of phosphatases in the duodenum of the mouse. *J. Cell. Comp. Physiol.,* **27,** 159, 1946.
36. Dempsey (E. W.) & Singer (M.). — Observations on the chemical cytology of the thyroid gland at different functional stages. *Endocrin.,* **38,** 270, 1946.
37. Dempsey (E. W.), Wislocki (G. B.) & Singer (M.). Some

observations on the chemical cytology of striated muscle. *Anat. Rec.*, **96,** 221, 1946.

38. Dempsey (E. W.), Bunting (H.) & Wislocki (G. B.). — Observations on the chemical cytology of the mammary gland. *Am. J. of Anat.*, **81,** 309, 1947.
39. Dempsey (E. W.), Roy (O.), Greep (R. O.) & Deane (H. W.). — Changes in the distribution and concentration of alkaline phosphatases in tissues of the Rat after hypophysectomy or gonadectomy and after replacement therapy. *Endocrin.*, **44,** 88, 1949.
40. Desruisseaux et Baudoin (N.). — Sur le système phosphatasique d'une algue calcaire, *Corallina officinalis* L., et sur son rôle physiologique. *C. R. Soc. Biol.*, **143,** 519, 1949.
41. Drilhian (A.) et Busnel (R. G.). — Recherches sur les phosphatases d'insectes. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, **27,** 415, 1945.
42. Dumont (M.) et Berger (R.). — Phosphatasémie et puerpéralité. *Lyon Méd.*, **69,** 179, 1948.
43. Elftmann (H.). — Response of alkaline phosphatase of adrenal cortex of mouse to androgen. *Endocrin.*, **41,** 85, 1947.
44. Emmel (V. E.). — *a)* Alkaline phosphatase in the Golgi zone of absorbing cells of the small intestine. *Anat. Rec.*, **91,** 39, 1945.

*b)* The intracellular distribution of alkaline phosphatase in uterus mouse. *Anat., Rec.*, **95,** 159, 1946.

*c)* A cytochemical study of the effect of KCN on alkaline phosphatase activity in the kidney and intestine. *Anat. Rec.*, **96,** 173, 1946.

*d)* The intracellular distribution of alkaline phosphatase activity following various methods of histologie fixation. *Anat. Rec.*, **95,** 159, 1946.

*e)* Some effects of enzymatic digestion of the histochemically demonstrable phosphatase in the kidney and intestine. *Anat. Rec.*, **103,** 445, 1949 (abstract).
45. Engel (M. B.) & Furuta (W.). — Histochemical studies of distribution in developing of teeth of albino Rat. *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.*, **50,** 5, 1942.
46. Euler (H. Von), Hahn (L.) & Saluste (E.). — Zur Kenntnis tierischer Phosphatasen I. *Ark. Kem. Mineral Geol. Sverige,* **24,** 1947.
47. Fawcett (D. W.). — Difference in physiological activity in brown and white fat as revealed by histochemical reactions. *Science,* **105,** 123, 1947.
48. Fawcett (D. W.). — Histochemical and experimental studies on brown and withe adipose tissue. *Anat. Rec.*, **103,** 450, 1949 (abstract).

49. Feyel - Cabanes (Th.). — Présence et rôle d'une phosphatase (monophosphoestérase I) dans la sous-maxillaire de Souris. *C. R. Soc. Biol.*, **143**, 230, 1949.

50. Fisher (I.) & Glick (D.). — Histochemistry XIX. Localization of alkaline phosphatase in normal and pathological human skin. *Pro. Soc. Exp. Biol. Med.*, **66**, 14, 1947.

51. Fontaine (R.), Chevallier (A.), Mandel (P.), Wiest (E.) et Schuller (M.). — Etude de l'activité phosphatasique des os longs au cours des fractures expérimentales chez le Chien. *C. R. Soc. Biol.*, **142**, 702, 1948.

52. Gerebtzoff (M. A.), Ninane (G.) et Firket (H.). — Mise en évidence de phosphatase alcaline au niveau des annexes du système nerveux et notamment des plexus choroïdes. *C. R. Soc. Biol.*, **144**, 734, 1949.

53. Gersh (I.) & Bodian (D.). — Histochemical analysis of changes in rhesus motoneurons after root section. *Biol. Symposia*, **10**, 163, 1943.

54. Getty (R.). — The localization of alkaline and acid phosphatase in normal telangiectatic bovine livers and livers exhibiting a focal hepatitis (« saw dust » bovine livers). *Anat. Rec.*, **103**, 455 (abstract), 1949.

55. Glick (D.) & Fischer (E. E.). — *a)* The histochemical localization of adenosinetriphosphatase in plant and animal tissues. *Science*, **102**, 429, 1945.

*b)* Study in histochemistry XVI. Methods for the histochemical localization of adenosine triphosphatase, thiamine-pyrophosphatase and glycerophosphatase in grains and sprouts. *Arch. Biochem.*, **8**, 91, 1945.

56. Gömori (G. S.). — *a)* Microtechnical demonstration of phosphatase in tissue section. *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.*, **42**, 23, 1939.

*b)* The distribution of phosphatase in normal organs and tissues. *J. Cell. Comp. Physiol.*, **17**, 71, 1941.

*c)* Distribution of acid phosphatase in the tissues under normal and pathologic conditions. *Arch. Path.*, **32**, 189, 1941.

*d)* The distribution of phosphatase in normal organs and tissues. *J. Comp. Cell. Physiol.*, **17**, 71, 1941.

*e)* Hexose diphosphatase. *J. Biol. Chem.*, **148**, 139, 1943.

*f)* Calcification and phosphatase. *Am. J. Path.*, **19**, 197, 1943.

*g)* The study of enzymes in tissue sections. *Am. J. Chem. Pathol.*, **16**, 347, 1946.

57. Gould (B. S.). — The action of alkaline phosphatase. *J. Biol. Chem.*, **156**, 365, 1944.

58. Greenstein (J. P.). — Distribution of acid and alkaline phos-

phatase in tumors, normal tissues and tissues of tumor bearing mice. *J. Nat. Cancer Inst.*, **2**, 511, 1942.

59. Greenstein (J. P.) & Leuthardt (P. M.). — *a)* Note on the enzymatic activity of normal and neoplastic tissues of the Rat. *J. Nat. Cancer Inst.*, **6**, 317, 1946.

*b)* Neutral beta glycerophosphatase activity in normal and neoplastic tissues. *J. Nat. Cancer Inst.*, **7**, 1, 1946.

60. Greep (R. O.). — Alkaline phosphatase in bone formation. *Anat. Rec.*, **100**, 667, 1948.

61. Greep (R. O.), Fischer (C. J.) & Morse (A.). — Histochemical demonstration of alkaline phosphatase in decalcified dental and osseous tissues. *Science*, **105**, 666, 1947.

62. Hard (W. L.). — *a)* A histochemical and quantitative study of phosphatase in the placenta and fetal membranes of the guinea pig. *Am. J. of Anat.*, **78**, 47, 1946.

*b)* Phosphatase and glycogen relationships in the developing Tela choroïda of rodents. *Anat. Rec.*, **103**, 465 (abstract), 1949.

63. Hard (W. L.) & Lassek (A. M.). — The pyramidal tract acid phosphatase in the axons of Mammals. *Anat. Rec.*, **94**, 391 (abstract), 1946.

64. Horowitz (N. H.). — Histochemical study of phosphatase and glycogen in fetal heads. *J. Dent. Res.*, **21**, 519, 1942.

65. Jacoby (F.). — *a)* Pancreas and alkaline phosphatase. *Nature*, **158**, 268, 1946.

*b)* Differences in localization by histochemical means of alkaline phosphatase within the same organ of different experimental animals. *J. Physiol.*, **19**, 105, 1946.

*c)* Use of the phosphatase reaction in a method of demonstrating bile capillaries in rats. *J. Physiol.*, **33**, 106, 1947.

66. Jeener (R.). — *a)* Sur les liens de la phosphatase alcaline avec les nucléoprotéides du noyau cellulaire et des granules cytoplasmiques. *Experientia*, **2**, 458, 1946.

*b)* Sur les rapports existant entre la phosphatase alcaline et les nucléoprotéides. In *Actualités Biochimiques*, Ed. Desoer, **10**, 88, 1947.

*c)* Acides nucléiques et phosphatases au cours des phénomènes de croissance provoquée par l'œstradiol et la prolactine. *Biochim. Biophys. Acta*, **2**, 439, 1948.

67. Johnson (P. L.), Butcher (E. O.) & Bevelander (G.). — The distribution of alkaline phosphatase in the cyclic growth of rat hair follicle. *Anat. Rec.*, **93**, 355, 1945.

68. Johnson (P. L.) & Bevelander (G.). — Glycogen phosphatase in the developing hair. *Anat. Rec.*, **95**, 193, 1946.

69. Junqueira (L. C.), Fayer (A.), Rabinovitch (M.) & Fran-

KENTAL (L.). — Biochemical and histochemical observation on the sexual dimorphism of mouse submaxillary glands. *Biol. Bull.*, **95**, 243, 1948.

70. KABAT (E. A.) & FURTH (J.). — A histochemical study of the distribution of alkaline phosphatase in various normal and neoplastic tissues. *Am. J. Path.*, **17**, 303, 1941.

71. KALEKAR (H.). — Phosphatase in kidney tissue. *Enzymologia*, **2**, 47, 1937.

72. KAY (H. D.). — Phosphatase in growth and disease of bone. *Physiol. Rev.*, **12**, 384, 1932.

73. KOCHAKIAN (C. D.). — Histochemical study of alkaline phosphatase of the kidney of the castrated mouse after stimulation with various androgens. *Amer. J. Physiol.*, **152**, 257, 1948.

74. KOCHAKIAN (C. D.), BARTLETT (M. N.) & GONGORA (J.). — Effect of castration and androgen on body and organ weights and the arginase and phosphatase of kidney and liver of the male syrian Hamster. *Am. J. Physiol.*, **153**, 210, 1948.

75. KOCHAKIAN (C. D.), BARTLETT (M. N.) & MOE (J.). — Effect of high protein and high carbohydrate diets on the arginase and phosphatase of the liver and kidney of the normal and adrenalectomized rat. *Am. J. Physiol.*, **154**, 489, 1948.

76. KOCHAKIAN (C. D.), GARBER (E. E.) & BARTLETT (M. N.). — Effect of œstrogen alone and in combination with testosterone on the body and organ weights and the arginase and phosphatase of the organs of the mouse. *Am. J. Physiol.*, **155**, 265, 1948.

77. KOCHAKIAN (C. D.) & STETTNER (C. E.). — Effect of testosterone propionate and growth hormone on the arginase and phosphatase of the organs of the mouse. *Am. J. Physiol.*, **155**, 262, 1948.

78. KOCHAKIAN (C. D.) & VAIL (V. N.). — The effect of adrenalectomy, adrenal cortex extract and adrenal cortex extract plus testosterone propionate on the phosphatases of rat tissues. *J. Biol. Chem.*, **156**, 779, 1944.

79. KOSMAN (A. J.), KAULBERSG (J. W.) & FREEMAN. — The secretion of alkaline phosphatase by the dog's intestine. *Amer. J. Physiol.*, **138**, 236, 1943.

80. KRITZLER (R. A.) & GUTMAN (A. B.). — Alkaline phosphatase activity of the proximal convoluted tubules and the mechanism of phloridzin glycuresis. *Am. J. Physiol.*, **134**, 94, 1941.

81. KRUGELIS (E. G.). — Distribution and properties of intracellular alkaline phosphatase. *Biol. Bull.*, **90**, 220, 1946.

82. KRUGELIS (L. J.). — *a)* Alkaline phosphatase activity in early development of amphibian. *Biol. Bull.*, **93**, 215, 1947.

*b)* Alkaline phosphatase activity in developmental stages of *Arbacia*. *Biol. Bull.*, **93**, 209, 1947.

83. Kugler (O. E.) & Birkner (M. L.). — Histochemical observation of alkaline phosphatase in the integument gastrolith sac digestive gland and nephridium of the crayfish. *Physiol. Zool.*, **21**, 105, 1948.

84. Lambrechts (A.). — Nouvelles recherches sur le diabète phloridzique, la phloridzine et quelques substances apparentées. *Arch. internat. de Physiol.*, **44**, 136, 1937.

85. Landow (H.), Kabat (E. A.) & Newmann (W.). — Distribution of alkaline phosphatase in normal and neoplastic tissues of nervous system. Histochemical study. *Arch. Neurol. and Psychiat.*, **48**, 518, 1942.

86. Lassek (A. M.). — The stability of so called axonal acid phosphatase as determined by experiments in its « stainability ». *Stain Technol.*, **22**, 133, 1947.

87. Lassek (A. M.) & Hard (W. L.). — The pyramidal tract; the behavior of axonal acid phosphatase to maximal destruction of cells in origin of the monkey. *Anat. Rec.*, **94**, 520, 1946 (abstract).

88. Lecoq (R.). — Variation de l'activité phosphatasique des tissus et organes du rat au cours du rachitisme expérimental et son traitement par le calciférol. *C. R. Acad. Sc.*, **224**, 421, 1947.

89. Lison (L.). — La recherche histochimique des phosphatases. Etude critique. *Bull. Hist. appl.*, **25**, 23, 1948.

90. Libet (B.). — *a)* Localization of adenosine-triphosphatase (A T P - ase) in the giant nerve fiber of the squid. *Biol. Bull.*, **93**, 219, 1947.

*b)* Enzyme localization in the giant nerve fiber of the squid. *Biol. Bull.*, **95**, 277, 1948.

91. Lorch (I. J.). — *a)* Demonstration of phosphatase in decalcified bone. *Nature*, **158**, 269, 1946.

*b)* Note on the cytological localization of alkaline phosphatase. *Quart. J. Micr. Sc.*, **88**, 159, 1947.

92. Lundquist (F.). — Function of prostatic phosphatase. *Nature*, **158**, 710, 1946.

93. Lundsgaard (E.). — *a)* Hemmung von Esterifizierungsvorgängen als Ursach des Phloridzinwirkung. *Biol. Zeitschr.*, **264**, 209, 1933.

*b)* Die Wirkung von Phloridzin auf die Glukoseresorption. *Biol. Zeitschr.*, **264**, 221, 1933.

94. Mac Kelvie (A. M.) & Mann (F. C.). — Theorie of alkaline phosphatase in osteogenesis after transplantation of bone. *Proc. Staffmeet. Mayo Clinic*, **23**, 449, 1948.

95. Maudel (P.), Clavert (J.) et Mandel (M^me^). — Action de la

folliculine sur la phosphatase du sérum et sur celle de l'os chez le pigeon. *C. R. Soc. Biol.*, **142**, 244, 1948.

96. Marsh (J. B.) & Drabkin (D. L.). — Kidney phosphatase in alimentary hyperglycemia and phloridzin glycosuria. A dynamic mechanism for renal threshold for glucose. *Amer. J. Med. Sc.*, **213**, 378, 1947.

97. Mazia (D.), Blumenthal (G.) & Benson (E.). — The activity and distribution of desoxyribonuclease and phosphatase in the early development of *Arbacia punctulata*. *Biol. Bull.*, **95**, 250, 1948.

98. Menten (M. L.), Junge (J.) & Green (H. W.). — Distribution of alkaline phosphatase in the kidney following the use of histochemical azo-dye test. *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.*, **57**, 82, 1944.

99. Montagna (W.) & Noback (C. R.). — Localization of lipids and other chemical substances in the mast cells of man and laboratory mammals. *Anat. Rec.*, **100**, 535, 1948.

100. Montagna (W.) & Parks (H. T.). — A histochemical study of the glands of the anal sac of the dog. *Anat. Rec.*, **100**, 297, 1948.

101. Moog (V.). — *a)* Distribution in spinal cord of chick embryos of one to eight days incubation of the phosphomonoesterase. *Proc. Nat. Acad. Sc.*, **29**, 176, 1943.

*b)* Localization of alkaline and acid phosphatase in the early embryogenesis of the chick. *Biol. Bull.*, **86**, 51, 1944.

*c)* The physiological significance of the phosphomonoesterase. *Biol. Rev.*, **21**, 41, 1946.

*d)* Adenylpyrophosphatase in brain, muscle, heart and liver of chick embryos and young hatched chicks. *Anat. Rec.*, **96**, 511 (abstract), 1946.

102. Moog (F.) & Steinbach (H. B.). — *a)* Localization of acid and alkaline phosphomonoesterase in cytoplasmic granules. *J. Cell. Comp. Physiol.*, **28**, 209, 1946.

*b)* Notes on the possibility of a histochemical method for localizing adenosine triphosphatase. *Science*, **103**, 144, 1946.

103. Nguyen Van Thoaï, Roche (J.) et Sartori (L.). — Isolement et cristallisation de la phosphatase alcaline du rein (phosphomonoestérase). *C. R. Soc. Biol.*, **138**, 47, 1944.

104. Nicola (M. de). — Distribuzione delle fosfatasi alcaline nei nuclei poliploidi delle cellule di rivestimento dei testicoli di Asellus *aquaticus*. *Ric. Sci. Ital.*, **8**, 1019, 1948.

105. Nickerson (M. J.), Krugelis (E. J.) & Andresen (N.). — Localization of alkaline phosphatase in yeast. *Nature*, **162**, 192, 1948.

106. Noback (C. R.). — *a)* Alkaline phosphatase and acid phosphatase in the mastcell. *Anat. Rec.*, **94**, 486, 1946.

*b)* Acid phosphatase in the fibroblast. *Anat. Rec.*, **103**, 552, 1949.

107. Noback (C. R.) & Montagna (W.). — *a)* Some histochemical aspects of the mastcell with special reference to alkaline phosphatase and cytochrome-oxydase. *Anat. Rec.*, **96**, 279, 1946.

*b)* Histochemical studies of the basophilia, lipase and phosphatase in the mammalian pancreas and salivary glands. *Am. J. Anat.*, **81**, 343, 1947.

108. Ohlemeyer (P.). — Ueber Phosphatase. *Z. Naturforsch*, **1**, 18, 1946.

109. Pettengil (O.) & Copeland (D. E.). — Alkaline phosphatase activity in the chloride cells of *Fundulus heteroclitus* and its relation to osmotic work. *J. Exper. Zool.*, **108**, 235, 1948.

110. Policard (A.) et Fulleringer (A.). — Sur les localisations histochimiques de la phosphatase alcaline au niveau du poumon du Rat. *C. R. Acad. Sc.*, **228**, 285, 1949.

111. Ponz (F.). — Accion de la tiroxina sobre la actividad fosfatasica del intestino delgado de rata. *Rev. Esp. Fisiol.*, **1**, 173, 1945.

112. Pritchard (J. J.). — The distribution of alkaline phosphatase in the pregnant uterus of the Rat. *J. Anat.*, **81**, 352, 1947.

113. Pugeat (H.) et Berger (R.). — Etude des phosphomonoestérases prostatiques. *J. Urol.*, **54**, 41, 1948.

114. Rabinovitch (M.) & Juinqueira (L. C. V.). — Cytochemical demonstration of acid phosphatase in bone marrow smears. *Science*, **107**, 322, 1948.

115. Rac (J. J.). — Estimation of salivary phosphatase. *J. Dent. Res.*, **20**, 453, 1941.

116. Ralph (P. H.). — Phosphomonoesterase localization in cells of the rabbit omentum. *Anat. Rec.*, **103**, 496, 1949.

117. Ring (J. R.). — Alkaline phosphatase activity of oral and vaginal epithelium of the rat during the estrous cycle. *Anat. Rec.*, **103**, 498, 1949.

118. Robinson (A. M.) & Warren (F. L.). — Presence of substances inhibitory to acid phosphatase in normal human urine. *Nature*, **161**, 397, 1948.

119. Robison (R.). — The possible significance of hexose phosphoric esters in ossification. *Biochem. Journ.*, **17**, 286, 1923.

120. Roche (J.). — *a)* La phosphatase des os. Biochimie normale et pathologique. In *Exposés annuels de Biochimie médicale*, **3**, 251. Masson édit., Paris, 1942.

*b)* La phosphatase des os et le mécanisme général de l'ossification. *Experientia*, **2**, 325, 1946.

*c)* Les enzymes à constituant métallique dissociable et l'interchangeabilité des métaux actifs. In *Exposés annuels de Biochimie médicale*, **6**, 93. Masson édit., Paris, 1946.

*d)* Récentes acquisitions sur la biochimie et la chimie physiologique des phosphatases. In *Actualités biochimiques*, **10**, 76. Desoer édit., Liège; Masson édit., Paris, 1947.

121. Roche (J.) et Bullinger (E.). — Sur le système phosphatasique des hématies. *C. R. Soc. Biol.*, **1**, 1271, 1938.

122. Roche (J.) et Courtois (J.). — Les phosphatases. Revue générale. In *Exposés annuels de Biochimie médicale*, **4**, 219. Masson édit., Paris, 1944.

123. Roche (J.) et Deltour (G.). — Sur le mécanisme biochimique de l'ossification et le rôle physiologique de la phosphatase des os. *C. R. Acad. Sc.*, **216**, 748, 1943.

124. Roche (J.), Laromiguière (S. de) et Laurens (A.). — *a)* Sur le système phosphatasique de la muqueuse intestinale. *C. R. Acad. Sc.*, **215**, 495, 1942.

*b)* Sur la différenciation des phosphatases alcalines (phosphomonoestérase et pyrophosphatase des divers organes animaux). *C. R. Soc. Biol.*, **137**, 243, 1943.

125. Roche (J.) et Mourgue (M.). — *a)* Premières étapes de la calcification des dents et rôle physiologique de la phosphatase. *C. R. Soc. Biol.*, **136**, 325, 1942.

*b)* Premières étapes de l'ossification des os embryonnaires et rôle de la phosphatase. *C. R. Acad. Sc.*, **214**, 809, 1942.

126. Saviano (M.) & Baccari (V.). — Ricerche sul diabete floridzinico : l'attivita fosfatasica del rene di animali diabetici per floridzina. *Boll. Soc. Ital. Biol. Sper.*, **22**, 569, 1946.

127. Saviano (M.) & Ruffo (A.). — Ricerche sul diabete floridzinico : il transporto di idrogeno negli organi degli animali diabetici per floridzina. *Boll. Soc. Ital. Biol. Sper.*, **22**, 567, 1946.

128. Schmidt (G.) & Tannhauser. — Intestinal phosphatase. *J. Biol. Chem.*, **149**, 369, 1943.

129. Seaman (A.). — Seasonal cytological changes in the female genital tract of the gartner snake. *Anat. Rec.*, **103**, 504, 1949.

130. Severi (R.). — *a)* Le fosfatasi tumorali I. La fosfatasi del tessuto connettivo normale e granulomatoso. *Boll. Soc. Ital. Biol. Sper.*, **22**, 83, 1946.

*b)* Le fosfatasi tumorali II. Le fosfatasi dei sarcomi sperimentali da glucosis. *Boll. Soc. Ital. Biol., Sper.*, **22**, 85, 1946.

*c)* Le fosfatasi tumorali III. Le fosfatasi del sarcoma di Crocker. *Boll. Soc. Ital. Biol. Sper.*, **22**, 86, 1946.

131. Sherlock (S.) & Walsche (V.). — Hepatic alkaline phosphatase : histological and microtechnical studies on liver tissues in normal subjects and in liver and in bone disease. *J. Pathol. Bacteriol.*, **59**, 615, 1947.

132. Slessor (A.) & Wyburn (G. M.). — Phosphatase and bone formation. *Lancet*, **254**, 212, 1948.

133. Sols (A.). — Fosfatasas. Revisión de la litteratura desde 1944. *Rev. Esp. Fisiol.*, **3**, 67, 1947.

134. Soulairac (A.). — *a)* Action du diabète alloxanique sur la phosphatase alcaline intestinale et rénale du Rat. Effet de l'insuline. *C. R. Soc. Biol.*, **142**, 643, 1948.

*b)* Localisation histochimique de la phosphatase alcaline (phosphomonoestérase) dans le tube digestif et le rein du Rat. *C. R. Soc. Biol.*, **142**, 645, 1948.

*c)* Action de la lactoflavine sur la phosphatase alcaline de l'intestin et du rein du Rat surrénalectomisé. *C. R. Soc. Biol.*, **142**, 779, 1948.

134 *d.* Soulairac (A.) et Desclaux (P.). — La mise en évidence d'une activité phosphatasique dans le muscle de Mammifère. *C. R. Soc. Biol.*, **143**, 470, 1949.

135. Soulairac (A.) et Thibault (C.). — *a)* L'activité phosphatasique dans le tractus génital des Mammifères. Localisation chez le Rat mâle et modifications expérimentales. *C. R. Acad. Sc.*, **227**, 446, 1948.

*b)* La localisation de l'activité phosphatasique dans le tractus génital des Mammifères. Action de certaines hormones stéroïdes chez le Rat mâle. *C. R. Soc. Biol.*, **142**, 24, 1948.

136. Sulkin (N. M.) & Gardner (J. H.). — The acid and alkaline phosphatase activity in the normal and recovering liver of the Rat. *Anat. Rec.*, **100**, 143, 1948.

137. Sulkin (N. M.). — Histochemical changes in arteries of hypercholesteremic rabbits. *Anat. Rec.*, **103**, 510, 1949.

138. Süllman (H.). — Histochemische Untersuchungen ueber Phosphatasen der Cornea. *Z. Vitam. Hormon. Fermentforsch*, **374**, 80, 1947.

139. Sunderman (F. W.). — Recent advances in the significance and interpretation of phosphatase measurements in disease. *Amer. J. Clin. Path.*, **12**, 404, 1942.

140. Stafford (R. G.), Mc Shan (W. H.) & Meyer (R.). — Acid and alkaline phosphatases in ovarian tissues of the rat during pregnancy and lactation. *Endocrin.*, **41**, 45, 1947.

141. Takamatsu (H.). — Histologische und biochemische Studien ueber die Phosphatase : histochemische Untersuchungs methodik deren Verteilung in verschiedenen Organen und Geweben. *Tr. Jap. Path. Soc.*, **29**, 492, 1939.

142. Thibault (C.) et Soulairac (A.). — L'activité phosphatasique du tractus génital des Mammifères. Modifications expérimentales chez le Rat femelle. *Ann. Endocrin.*, **9**, 555, 1948.

143. Tissières (A.). — *a)* L'activité des phosphomonoestérases et des pyrophosphatases dans le rein et l'intestin du Rat surrénalectomisé et l'action de la désoxycorticostérone. *Acta Anat.*, **5**, 224, 1948.

*b)* L'influence de la castration, du testostérone et de l'œstradiol sur les phosphatases du rein chez le Rat. Etude histochimique. *Acta Anat.*, **5**, 235, 1948.

144. Verne (J.) et Hebert (Simone). — *a)* Etude histochimique des phosphatases alcalines de l'intestin du Rat, dans leurs rapports avec la corticosurrénale. *C. R. Soc. Biol.*, **142**, 300, 1948.

*b)* Variations histochimiques de la phosphatase alcaline au cours de l'évolution des ébauches dentaires. *C. R. Soc. Biol.*, **142**, 1392, 1948.

*c)* Les hormones stéroïdes sexuelles et l'activité mise en évidence histochimiquement de la phosphatase alcaline de l'intestin chez le Rat surrénalectomisé. *C. R. Soc. Biol.*, **143**, 201, 1949.

145. Vitagliano (G.) & Nicola (M. de). — Ribonucleic acid supply and phosphatase distribution during the spermatogenesis of *Asellus aquaticus* L. *Nature*, **162**, 965, 1948.

146. Wachstein (M.). — *a)* Renal phosphatase in cholin deficiency. *Arch. of Path.*, **38**, 297, 1944.

*b)* Influence of dietary deficiencies and various poisons on histochemical distribution of phosphatase in liver. *Arch. of Path.*, **40**, 57, 1945.

*c)* The demonstration of enzymatic activity in tissues sections. *Proc. N.-Y. Ass. Publ. Health Lab.*, **26**, 10, 1946.

*d)* Alkaline phosphatase activity in normal and abnormal human blood and bone marrow cells. *J. Lab. and Clin. Med.*, **31**, 1, 1946.

147. Wachstein (M.) & Zak (F. G.). — *a)* Histochemical distribution of alkaline phosphatase in dog liver after experimental biliary obstruction. *Proc. Soc. Exper. Biol. and Med.*, **62**, 73, 1946.

*b)* Distribution of alkaline phosphatase in human liver study of post mortem material. *Arch. of Pathol.*, **42**, 501, 1946.

148. Walker (A. M.) & Hudson (G. L.). — Reabsorption of glucose from renale tubule in Amphibian and action of phloridzin upon it. *Am. J. Physiol.*, **118**, 130, 1937.

149. Wicklund (E.). — Distribution of alkaline phosphatase in the eggs of sea-urchin. *Nature*, **161**, 556, 1948.

150. Wilmer (E. N.). — The localization of phosphatase in tissue culture. *J. Exp. Biol.*, **19**, 11, 1942.

151. Wilmer (H. A.). — Failure to demonstrate alkaline phosphatase activity in inclusion bodies by the histochemical technic. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **55**, 206, 1944.

152. Wimsatt (W. A.). — Glycogen, polysaccharide complexes and alkaline phosphatase in the ovary of the bat during hibernation and pregnancy. *Anat. Rec.*, **103**, 564, 1949.

153. Wislocki (G. B.). — Seasonal changes in the testis, epididymides and seminal vesicles of Deer investigated by histochemical methods. *Endocrin.*, **44**, 167, 1949.

154. Wislocki (G. B.) & Dempsey (E. W.). — *a)* Histochemical reactions of the endometrium in pregnancy. *Am. J. Anat.*, **77**, 365, 1945.

*b)* Observations on the chemical cytology of normal blood and hemopoïetic tissues. *Anat. Rec.*, **96**, 249, 1946.

*c)* Histochemical age changes in normal and pathological placenta villi (hydatiform mole, eclampsia). *Endocrin.*, **38**, 90, 1946.

*d)* Histochemical reaction in the placenta of the Cat. *Am. J. Anat.*, **78**, 1, 1946.

*e)* Histochemical reaction in the placenta of the Pig. *Am. J. Anat.*, **78**, 181, 1946.

*f)* The chemical histology of the human placenta and decidua with reference to mucopolysaccharides, glycogen, lipids and acid phosphatases. *Amer. J. Anat.*, **83**, 1, 1948.

*g)* The chemical histology and cytology of the pinea body and neurohypophysis. *Endocrin.*, **42**, 56, 1948.

155. Wislocki (G. B.), Deane (H. W.) & Dempsey (E. W.). — The histochemistry of the rodent's placenta. *Am. J. Anat.*, **78**, 281, 1946.

156. Wolf (A.), Kabat (E. A.) & Newmann (W.). — Histochemical studies on tissue enzymes. A study of the distribution of acid phosphatase with special reference to the nervous system. *Am. J. Path.*, **19**, 423, 1943.

157. Woodward (H. Q.). — The glycerophosphatase of the Rat liver cancer produced by feeding p. dimethylaminoazobenzene. *Cancer. Res.*, **3**, 159, 1943.

158. Wright (G. P.). — Factors influencing respiration of erythrocytes; primitive avian erythrocytes. *J. Gen. Physiol.*, **14**, 201, 1930.

159. Zorzoli (A.). — *a)* Alkaline phosphatase in the early development of *Fundulus heteroclitus*. *Biol. Bull.*, **93**, 211, 1947.

*b)* Alkaline phosphatase in demineralized mouse bone of different ages. *Biol. Bull.*, **95**, 240, 1948.

160. Zorzoli (A.) & Stowell (R. E.). — Comparison of the distribution of an hexosediphosphatase with glycerophosphatase in different tissues. *Anat. Rec.*, **97**, 495, 1947.

Bordeaux. — Imp. E. Drouillard, place de la Victoire, 3.